UNIVERSITE DE BORDEAUX
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1970 • Thèse n° 593

Contribution à l'étude des composés organiques oxygénés volatils des plantes

Thèse pour le Doctorat de l'Université
(Mention Pharmacie)
présentée et soutenue publiquement
le Mercredi 14 Janvier 1970

par Anne-Marie QUEYLOUIS
Assistante à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
née le 25 Février 1942 à LIBOURNE (Gironde)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM H. LAUBIE, Professeur . . . . . Président
R. BABIN, Professeur . . . . . Juges
J. CANELLAS, Professeur . . . . . Juges
P. L'ÉPÉE, Agrégé . . . . . Juges

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret BORDEAUX
— Tél: 91-12-59 —

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543911_0021

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. G. PORTMANN, R. SIGALAS, F. TAYEAU.
DOYEN : M. H. BRICAUD. — **ASSESSEURS :** MM. J. MASQUELIER, J. RIVIÈRE, Cl. BERAUD.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. CHARRIER, DUBREUIL, CREYX, DARGET, R. SIGALAS, G. PORTMANN, M. RIVIÈRE, R. GIRARD, C. PIFFAULT, R. FABRE, R. DUFOUR, P. FOURMENT, E. AUBERTIN, X. J. DUBECQ, L. MASSÉ, A. LACHAPÈLE, G. VITTE, J. DESPONS, G. DUBOURG, P. DELMAS-MARSALET.

MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ HONORAIRE : M. BERGER.

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	
P. DERVILLÉE	Médecine légale et Médecine du travail.
R. MANDOUL	Zoologie et parasitologie.
R. CASTAGNOU	Toxicologie et hygiène appliquée.
J. REBOUL	Carcinologie.
P. MESNARD	Chimie organique et Chimie analytique.
R. GRANDPIERRE	Physiologie.
P. BROUSTET	Clinique médicale cardiologique.
N.	Clinique chirurgicale.
F. TAYEAU	Biochimie médicale A.
G. MAYER	Histologie et embryologie.
P. BLANQUET	Physique nucléaire appliquée et radiobiologie.
R. SARIC	Clinique médicale.
L. POUYANNE	Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique.
J.-J. DUBARRY	Hydro-climatologie thérapeutique et clinique des maladies de l'appareil digestif.
F.-J. TRAISSAC	Clinique thérapeutique.
R. MAHON	Clinique d'accouchements.
R. PAUTRIZEL	Immunologie et biologie parasitaire.
Mlle G. ROUGIER	Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports.
G. MOUSTARDIER	Bactériologie.
E. BESSIÈRE	Clinique ophtalmologique.
H. LEGER	Anatomie pathologique.
J. MASQUELIER	Matière médicale.
G. MORETTI	Clinique médicale propédeutique et médecine tropicale.
N.	Clinique oto-rhino-laryngologique.
P. LAUMONIER	Clinique chirurgicale pleuro-pulmonaire.
J. LENG-LÉVY	Clinique médicale et des maladies infectieuses.
R. LETAC	Pathologie et recherche chirurgicales.
R. QUILICHINI	Pharmacie galénique.
E. NEUZIL	Biochimie médicale B.
R. STOLL	Biologie.
J. LANGE	Clinique urologique.
P. FRÉOUR	Hygiène et Clinique de pneumophtisiologie.
F. RIGAUD	Anatomie.
J. FAURE	Médecine expérimentale et physiopathologie.
N.	Clinique chirurgicale des maladies cardiaques.
J. VILLAR	Clinique gynécologique.
P. LE COULANT	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.
M. BERGOUIGNAN	Clinique neurologique.
J. DUHAMEL	Physique médicale et pharmaceutique.
R. BABIN	Pharmacie chimique.
H. CHOUSSAT	Pathologie médicale.
L. CHASTRUSSE	Clinique obstétricale.
P. VERGER	Clinique médicale des maladies des enfants.
F. LAPORTE	Chirurgie générale.
R. TINGAUD	Clinique chirurgicale.
H. LAUBIE	Botanique et cryptogamie.
Cl. RICHIR	Anatomie pathologique.
R. GOLSE	Chimie générale et Chimie minérale.
J. BAILENGER	Zoologie et biologie animale.
J.-Cl. COLLETER	Chimie analytique.
H. BRICAUD	Médecine générale.
P. BENOIT	Clinique odonto-stomatologique.
Cl. MARTIN-DUPONT	Clinique néphrologique
J. CANELLAS	Pharmacodynamie et hydrologie.
R. CANIVENC	Histologie.
G. DELORME	Electroradiologie.
J. DEPAULIS	Séméiologie chirurgicale.
J. RIVIÈRE	Séméiologie médicale.
H. DULONG DE ROSNAY	Bactériologie.
R. CROCKETT	Chimie organique et chimie analytique.
R. DARMAILLACQ	Chirurgie générale.
H. POUYANNE	Clinique neuro-chirurgicale.
R. CASTAING	Réanimation respiratoire et anesthésiologie.

PROFESSEUR ASSOCIÉ

M.	
A. BAGHDIANTZ	Physique et chimie (Pharmacie).

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	
J. DAVID-CHAUSSÉ	Médecine générale.
J. MARQUEVIELLE	Biochimie médicale.
M. BLANC	Neuro-psychiatrie.
Cl. MASSÉ	Chirurgie générale.
R. MARAUD	Histologie et embryologie.
P. DU PASQUIER	Bactériologie.
J. STAEFFEN	Médecine générale.
J.-P. DUBECQ	Obstétrique.
G. NEVERRE	Physiologie.
J. MEUNIER	Histologie.
A. SERISÉ	Hygiène.
P. FERRET-BOUIN	Physique médicale.
J. VIDEAU	Anatomie.
P. BLANCHOT	Médecine générale.
L. DOUTRE	Chirurgie générale.
P. LOISEAU	Neuro-psychiatrie.
Cl. VRIGNAUD	Physique pharmaceutique.
P. SOURREIL	Dermato-vénéréologie.

MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉS :

MM.	
R. JENSEN	Chimie biologique.
J. BROUSSIN	Electroradiologie.
R. TESSIER	Pneumo-phtisiologie.
Mme J. SÉCHET	Biochimie médicale.
C. LAGARDE	Carcinologie.
C. BÉRAUD	Thérapeutique.
H. LAZARINI	Médecine légale et Médecine du travail.
J. SOUMIREU-MOURAT	Obstétrique.
G. CABANIEU	Médecine générale.
R. LE LOURD	Pneumo-phtisiologie.
L. COURAUD	Chirurgie générale.
J. BENTÉGEAT	Hématologie.
J. ROQUEBERT	Pharmacodynamie.
L. ARNÉ	Médecine générale et thérapeutique.
Cl. MARTIN	Pédiatrie.
R. BAUTE	Cryptogamie.
V. DARGELOS	Microbiologie.
Mlle S. LARCEBAU	Toxicologie.
M. GADRET	Chimie analytique.
C. WONÉ	Médecine générale et thérapeutique.
J. JULIEN	Médecine générale et thérapeutique.
J.-J. BATTIN	Pédiatrie.
M. DALLOCCHIO	Cardiologie et maladies vasculaires.
J. AUBERTIN	Maladies infectieuses.
P. VÉRIN	Ophtalmologie.
M. GOT	Neuro-chirurgie.
J. TAVERNIER	Electroradiologie : diagnostic et thérapeutique.
J. VINCENT	Physiologie et explorations fonctionnelles.
L. CHEVAIS	Anesthésiologie.
G. GILLARDEAU	Anesthésiologie.
J. HONTON	Orthopédie et traumatologie.
M. BOMBART	Orthopédie et traumatologie.
A. HUGUES	Cancérologie.
M. SABATHIÉ	Anesthésiologie.
E. JOUZIER	Chimie biologique (Pharmacie).
F. COUSTOU	Législation et déontologie pharmaceutique.

MAITRE DE CONFÉRENCES ASSOCIÉ

M.	
J. MOULINIER	Hématologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.	
P. BIRBIS	Chirurgie générale.
J.-P. CALAMEL	Chirurgie générale.
L. TEXIER	Dermato-syphiligraphie.
R. GENESTE	Orthopédie.
F. FONTAN	Chirurgie générale.
J. LASSERRE	Orthopédie.

AGRÉGÉS LIBRES

MM.	
G. FAUGÈRE	Obstétrique.
M. L'ÉPÉE	Médecine légale.
H. CABANIÉ	Anatomie.
L. CORCELLE	Ophtalmologie.
M. PORTMANN	Oto-rhino-laryngologie.
F. BALLANGER	Urologie.

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES :

MM.	
P. BONJEAN	Anatomie.
M. LAHOURCADE	Parasitologie.
M. SENTENAC	Anatomie.
G. DELMON	Anatomie pathologique.
J. TRIBOULEY	Immunologie, sérologie.
F.-X. MICHELET	Stomatologie.
L. PINSON	Oto-rhino-laryngologie.
F. COHADON	Neuro-chirurgie.
J.-Cl. ROQUES	Physique médicale.
P. ESCHAPASSE	Physique médicale.
J. PACCALIN	Médecine générale et thérapeutique.

Le Conseiller administratif, Chef des services administratifs :
André ARGILAS.

L'Attaché d'administration universitaire, Directeur du cabinet :
Madame M. C. CHAPENOIRE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1970 • Thèse n° 593

Contribution à l'étude des composés organiques oxygénés volatils des plantes

Thèse pour le Doctorat de l'Université
(Mention Pharmacie)
présentée et soutenue publiquement
le Mercredi 14 Janvier 1970

par Anne-Marie QUEYLOUIS
Assistante à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
née le 25 Février 1942 à LIBOURNE (Gironde)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM H. LAUBIE, Professeur . . . . . Président
R. BABIN, Professeur . . . . . Juges
J. CANELLAS, Professeur . . . . . Juges
P. L'ÉPÉE, Agrégé . . . . . Juges

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél: 91-12-59 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MA MERE

A LA MEMOIRE DE MA GRAND-MERE

et DE MON PERE

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A Monsieur le Professeur Honoraire G. VITTE

Membre correspondant de l'Académie de Médecine
Membre correspondant de l'Académie de Pharmacie
Professeur Honoraire de Pharmacie chimique et pharmacodynamie
Pharmacien Honoraire des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier de l'Ordre national du Mérite
Commandeur des Palmes académiques
Officier de la Santé publique
Médaille de Vermeil du Service de Santé de la Marine
Chevalier du Mérite agricole

En témoignage de notre profonde reconnaissance pour les indications et les directives qui m'ont aidée à réaliser cette thèse.

A Monsieur le Professeur R. CROCKETT

Professeur de Chimie organique
et Chimie analytique

Nous vous exprimons notre sincère reconnaissance pour les conseils judicieux que vous nous avez prodigués.

A NOS JUGES

Monsieur le Docteur P. L'EPEE

Agrégé libre de Médecine légale et Médecine du Travail
Médecin Inspecteur du Travail et de la Main-d'oeuvre de la Région d'Aquitaine
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier des Palmes académiques
Chevalier du Mérite social
Chevalier du Mérite agricole

En témoignage de la fraternelle amitié que vous nous avez toujours témoignée.

Monsieur le Professeur J. CANELLAS

Professeur de Pharmacodynamie et d'Hydrologie
Licencié ès Sciences
Officier des Palmes académiques

En témoignage reconnaissant pour l'intérêt que vous avez bien voulu apporter à ce travail, veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude.

Monsieur le Professeur R. BABIN

Professeur de Pharmacie chimique
Docteur ès Sciences
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier des Palmes académiques

Nous avons été très sensible au bienveillant accueil que vous nous avez réservé dans votre laboratoire; vous nous faites aujourd'hui l'honneur de juger cette thèse, nous vous prions de trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur H. LAUBIE

Professeur de Botanique et Cryptogamie
Docteur ès Sciences
Officier des Palmes académiques

Vous nous avez fait le grand honneur de nous accueillir dans votre laboratoire, de nous prodiguer vos conseils.

Que cette thèse soit pour vous une preuve de notre profonde reconnaissance.

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DES COMPOSES ORGANIQUES OXYGENES VOLATILS

DES PLANTES

AVANT - PROPOS

Cette étude a été entreprise sur la proposition de Monsieur le Professeur LAUBIE et de Monsieur le Professeur Honoraire VITTE pour compléter et confirmer certains travaux qu'ils avaient publiés . Les recherches sur les gaz émis par les plantes et sur l'éthanol contenus dans les fruits sont la suite de la présentation à l' Académie des Sciences du travail de MASQUELIER et VITTE ainsi que des travaux publics dans le bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux .

J'exprime ma reconnaissance à ces Maîtres qui m'ont prodigué leurs conseils et se sont intéressés à cette thèse depuis son début .

La partie expérimentale a été effectuée au laboratoire de Pharmacie Chimique de notre Faculté et j'adresse l'expression de ma gratitude au Professeur BABIN pour son aimable hospitalité .

Les expériences sur la plante in situ ont été faites dans la petite propriété du Professeur VITTE à Latresne . C'est de son jardin que provenaient les organes végétaux utilisés .

Cette thèse a bénéficié de l'ambiance de travail qui règne au Laboratoire de Pharmacie Chimique et je ne puis oublier de remercier Monsieur VILLAIN pour son aide technique .

INTRODUCTION

C'est l'avènement de la chromatographie en phase gazeuse qui a rendu possible la mise en évidence de nombreux composés existant dans les plantes ou chez les animaux ; en effet à cause de leur très faible taux, la séparation de ces principes était trop délicate par les méthodes analytiques jusque là utilisées et leur dosage, pratiquement aléatoire . Depuis quelques années, différents auteurs ont pu mettre en évidence des corps dont on ne soupçonnait même pas la présence soit chez les végétaux, soit chez les animaux . Nos connaissances sur l'existence, la localisation, le dosage dans les plantes des composés volatils appartenant au groupe des alcools, aldéhydes , cétones, esters, éthers ont ainsi largement progressé .

Parmi les alcools, c'est d'abord l'existence de l'éthanol qui a été vérifiée ; cela n'a rien d'étonnant étant donné l'importance de ce composé dans de nombreux domaines ; mais, par la suite, de nombreux corps appartenant à cette série ont été mis en évidence . JAULMES et coll. (1), dans un remarquable travail bibliographique sur les alcools, ont cité différents travaux sur l'existence dans les plantes de : méthanol, éthanol, 1 propanol, 2 propanol, 2 méthyl 1 propanol, 2 butanol, 2 méthyl 1 butanol, 3 méthyl 1 butanol, 3 méthyl 2 butanol, 3 méthyl 3 butanol, 1 pentanol, 2 pentanol, 3 pentanol, pentanol tertiaire etc . . , n hexanol, 2 hexanol, 3 hexanol, etc. . , 1 heptanol, octanol, nonanol, décanol, 2-3 butane diol, propylène glycol, 2 phényl éthanol; on trouvera dans cet article plus d'une centaine de références sur les alcools .

Il ne semble pas qu'ait été publiée une bibliographie systématique sur les aldéhydes, cétones, esters, analogue à celle de JAULMES sur les alcools, les recherches sur ces corps étant beaucoup plus restreintes .

La présence des produits volatils tels que : éthanol, acétone, méthanol, éthanol paraît constante dans les plantes, alors que celle de l'éther, butanone, acétate d'éthyle, propanal semble très fréquente . C'est ce que l'on peut déduire des travaux de divers auteurs, en particulier de MASQUELIER et VITTE (2).

A notre connaissance, il ne semble pas que des recherches systématiques sur les variations de ces composés dans les différentes parties des plantes, ou suivant leur état, aient été publiées . A priori, on peut penser que l'état de la végétation, les conditions climatiques et d'autres facteurs peuvent avoir une influence sur la composition tant qualitative que quantitative des constituants volatils des plantes .

La chromatographie en phase vapeur permet l'identification de très petites quantités de ces corps et même un dosage assez précis . Il est donc possible de mettre en évidence les variations éventuelles de composition . Ce sera l'objet principal de notre thèse qui peut être considérée comme une suite aux recherches des auteurs précités .

xxx

Dans un premier chapitre, nous rappellerons brièvement les travaux antérieurs, concernant les composés volatils chez les êtres vivants .

Le second chapitre sera consacré aux techniques utilisées pour obtenir les liquides à injecter dans le chromatographe . Nous y décrirons schématiquement cet appareil en expliquant le processus d'utilisation ainsi que le matériel de laboratoire nécessaire .

Nous exposerons dans les chapitres suivants chapitre III à X les résultats obtenus par l'étude des chromatogrammes concernant les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les fruits, les gaz dégagés par les plantes .

Enfin en conclusion, nous commenterons brièvement les résultats obtenus au cours de nos travaux personnels .

CHAPITRE I

PRINCIPAUX TRAVAUX PUBLIES SUR QUELQUES COMPOSES VOLATILS CHEZ LES ETRES VIVANTS

L'importance de l'éthanol a provoqué, depuis le début du 19ème siècle, des recherches nombreuses .

La présence d'éthanol dans les fruits était signalée depuis fort longtemps : déjà BERARD (37), en 1821 , avait indiqué que des pommes maintenues durant un temps assez long dans une enceinte close se ramollissaient en formant de l'alcool ; par la suite , il fut admis que c'était là une transformation spontanée, car MATURCHAR avait retrouvé ce même phénomène en l'absence de levure et l'avait dénommé "fermentation propre". THOMAS (3) avait étudié l'influence de l'Azote et de l'Oxygène sur la conservation des pommes . Il avait constaté que l'Oxygène retarde la formation d'éthanol et que, pour une proportion de 3 pour cent d'O, il ne s'en produit pas; cependant, il avait vérifié qu'après une conservation de plusieurs mois, même l'oxygène pur n'empêchait pas la formation de ce composé .

Quant à la présence de méthanol,aldéhydes,cétones et autres composés volatils, il semble qu'aucune recherche systématique n'ait été entreprise dans les plantes . Ces différents composés ont été mis en évidence au cours de recherches récentes concernant la composition des arômes et des essences des fruits .

Le méthanal a été recherché particulièrement dans les fruits : raisins WEBB (4), pommes WHITE (5), tomates SHORNMULLER (6), etc ...

Différents aldéhydes ont été mis en évidence, méthanal CONNEL (7), éthanal THOMAS (8), HOLLEY (9), NABB (10), PYNE (11), SWAIN (12), GAWLER (13), butanal CONNEL (7), pentanal RALLS (14), hexanal PYNE (11), RALLS (14), WINTER (15), HEINZ (16), WEBB (4), Furfural CONNEL (7), 3-méthylbutanal SWAIN (12) .

Dans l'essence de roses, PANOYOTOV (17), outre l'éthanol et le propanol, a trouvé différents aldéhydes : valéraldéhyde, nonylaldéhyde, citraldéhyde, cinnamaldéhyde, salylaldéhyde et phénylacétaldéhyde .

Parmi les cétones, c'est surtout l'acétone qui a été mise en évidence : plus rarement, il a été trouvé : butanone, pentanone .

Acétone WINTER (15), CONNEL (7), HALLEY (9), GAWLER (13) .

Butanone PYNE (11), WEBB (10).

Pentanone WINTER (15), WEBB (10).

Ionone WINTER (15) .

Les esters se trouvent en grand nombre et principalement dans les fruits ; cela n'a rien d'étonnant si l'on considère les nombreux alcools qui ont été découverts . C'est ainsi que STERN (18) et coll. en recherchant les produits volatils du jus de raisin variété "concorde" par la chromatographie gazeuse avec colonne capillaire, ont mis en évidence 16 esters . Quant aux éthers, ils semblent être rares : seul l'éther ordinaire est signalé par SCHORNMULLER (6) dans la pomme de terre et par STEVENS (19) dans le jus de raisin .

Dès 1859, la présence d'alcool éthylique chez l'homme avait été mentionnée par FORT et, ultérieurement, admise par différents auteurs tels que BECHAMP et ALBERTONI, RAJEWSKI . Mais ce fut NICLOUX qui, au début du siècle et pendant une vingtaine d'années , étudia, avec le plus de précision et de soins , l'éthanol

dans l'organisme ; après des recherches sur l'urine, le sang, le lait, les tissus frais, il conclut à la présence de 0,001 à 0,01 pour cent d'éthanol . Dans le sang et les tissus de chien MAIGNON indique des taux voisins de ceux de NICLOUX . LANDSBERG décèle de l'alcool normalement dans les tissus de lapin . PRINGESHEIM (20) indique, pour une bouillie de foie et de muscle de rats, le chiffre de 0,0025 % . GODEAU (21) sur des bouillies de tissus de rats a obtenu des taux de 0,003 à 0,006 pour cent .

Cependant , GURFINKEL (22) considère comme taux normal d'alcool toute dose inférieure ou égale à 0,003 % et chez le lapin à jeun il n'a pas trouvé une quantité supérieure à 0,0015 % . CHAPHEAU (23), dans une étude fort intéressante intitulée "Métabolisme sur la Combustion de l'Alcool" considère que pour le foie et le muscle du lapin, la dose est toujours inférieure à 0,003%; chez l'homme alité et à jeun depuis 24 heures, le taux est inférieur à 0,002 % . Cependant, avant la découverte de la chromatographie, tous les auteurs n'admettaient pas l'existence d'alcool normal, car la méthode utilisée consistait en une oxydation . Ce doute est exprimé dans la thèse de CHAPHAUD qui écrivait : "

> " Ce que les auteurs et nous-même appelons alcool normal, est-ce bien de l'alcool ? . La distillation de bouillie de tissus frais d'animaux à jeun, fournit une liqueur qui réduit facilement le mélange sulfochromique et le résultat exprimé en alcool est exprimé en "alcool normal" .

A notre avis, il nous semble que l'on devrait seulement lui donner le nom de "substances réduisant le bichromate exprimé en alcool". Cependant, grâce à des réactions spécifiques, soit par la méthode enzymatique de Lundquist , soit par la chromatographie gazeuse, la présence d'éthanol normal est admise définitivement chez l'homme et les animaux et les chiffres donnés par LESTER (24) sont compris entre 0,002 et 0,003 pour cent .

Il ne semble pas que le méthanol ait été signalé chez l'homme avant fin 1963 . A cette époque, ERIKSEN (26) mit en évidence grâce à la chromatographie gazeuse cet alcool dans les produits de condensation de la respiration de tous les sujets testés, de race blanche, noire ou jaune . A la suite de nombreuses expériences , il concluait qu'à son avis, il ne voyait pas d'explication à cette présence .

Comme l'éthanol, l'acétaldéhyde existe normalement dans le sang, et sa teneur chez l'homme à jeun est considérée comme assez variable .

D'après LECOCQ (25), le taux chez les sujets normaux est compris entre 0,03 et 0,3 pour cent avec une moyenne inférieure à 0,1 pour cent . Il a été signalé des taux de 1 et même 3 pour cent chez des alcooliques chroniques présentant une défaillance hépatique plus ou moins accentuée .

L'acétone est également présente dans le sang des animaux : elle provient de la décarboxylation de l'acide acétylacétique . On dose généralement l'ensemble de ces deux corps car cet acide perd très facilement CO_2 au-dessus de 50°, pour donner de l'acétone . Le taux global varie de 0,001 à 0,005 pour cent, mais dépasse souvent, chez le diabétique, 0,02 pour cent .

CHAPITRE II
MATERIEL ET TECHNIQUES

On a donné le nom de chromatographie à un groupe de techniques destinées à séparer des composés divers ; c'est TSWETT (42) (43) qui, en 1903, décrivit la méthode originale de séparation de quelques groupes de substances colorées, à savoir les chlorophylles, carotènes et xanthophylles, et lui donna cette appellation . Depuis cette époque et plus particulièrement au cours des dernières années , le nombre et le volume des travaux consacrés aux méthodes chromatographiques sont considérables , ils intéressent la quasi totalité des substances chimiques, colorées ou non, solides, liquides ou même gazeuses .

Le facteur commun à toutes ces méthodes est l'emploi de deux phases : l'une stationnaire, l'autre mobile . La séparation des substances est le fait d'une distribution différente dans l'une et l'autre phase en proportion variable d'un produit à l'autre, donc spécifique de produit considéré .

Si la phase stationnaire est solide, la méthode est connue sous le nom de chromatographie par adsorption; si elle est liquide, c'est la chromatographie de "partition" ou de partage .

Puisque dans chaque cas, la phase mobile peut être soit un liquide, soit un gaz, il y a plusieurs types de chromatographie . Liquide-solide : par exemple, chromatographie en couches minces ; Gaz-solide : par exemple sur charbon de bois .

La chromatographie de partage qui est la plus utilisée comporte fondalement deux modalités :

La première liquide-liquide la plus simple est aussi la plus courante quant à son emploi; ce sont par exemple les chromatographies sur papier ou sur colonne .

La seconde gaz-liquide appelée couramment chromatographie gazeuse constitue en réalité une chromatographie gaz-liquide .

Elle est fondée sur la séparation ou partition des constituants d'un mélange entre une phase liquide fixe à point d'ébullition élevé, placé sur un support solide , et une phase gazeuse .

Il serait téméraire de vouloir résumer en quelques lignes la théorie de la chromatographie en phase gazeuse, car cela nécessiterait des développements mathématiques fort longs . De nombreux ouvrages ont été publiés en différentes langues ils permettront , bien mieux que nous ne saurions le faire, de revoir en détail cette partie nouvelle de la chimie analytique à laquelle nous devons de si belles et récentes découvertes (40-41).

Nous nous contenterons d'exposer les différentes étapes de nos opérations en donnant quelques détails techniques .

Tous nos travaux ont été réalisés par chromatographie gazeuse . Les nombreux appareils proposés par les constructeurs sont chaque jour plus perfectionnés . Nous avons utilisé le fractovap C de la firme Erba à ionisation de flamme .

Examinons le schéma de l'appareil (figure 8 planche Ap) :

On voit :

En 1 : l'arrivée de l'azote avec manomètre réglant et indiquant la pression ;

En 2 : un coupe-circuit ;

En 3 : un évaporateur pour l'échantillon, il est fermé par une membrane de caoutchouc que l'aiguille de la micro-seringue peut aisément traverser ; cet évaporateur est placé dans une petite étuve dont on peut régler la température selon les besoins ;

En 4 : l'emplacement du dispositif permettant de fractionner le courant gazeux ;

En 5 : un bloc pour la fixation de la colonne ;

En 6 : le corps du bloc pour l'insertion du gaz combustible oxygène dans la chambre entourant le petit brûleur (7) .

Le gaz porteur ou gaz vecteur doit être le plus pur possible ; c'est pourquoi on utilise surtout l'azote , l'hydrogène, l'hélium, plus rarement l'argon, le gaz carbonique. L'hélium est un gaz coûteux . Comme toutes nos recherches ont été faites avec un détecteur à ionisation de flamme, nous avons utilisé de l'azote R fournie par "L'Air Liquide" qui ne contient que des traces d'oxygène. Le débit du gaz porteur à la sortie facilement mesuré par un débitmètre à film de savon,est en général de l'ordre de 15 à 25 ml par minute .

La pression est maintenue constante par deux manodétendeurs , l'un fixé à la bouteille, l'autre dans le chromatographe ; en effet, l'enceinte doit être isobare .

Le gaz détecteur pour l'ionisation de flamme se compose d'un mélange d'hydrogène et d'oxygène fournis eux aussi par "L'Air Liquide" .

La température qui doit être elle aussi constante, est réglée dans l'appareil au moyen d'un thermostat . Toutes nos expériences ont été faites en isothermie.

La seringue d'injection utilisée est une microseringue (HAMILTON 75N), en verre, 5 micro-litres .

La colonne constitue, selon l'expression de certains auteurs , le cerveau du chromatographe , car c'est d'elle que dépend le succès de la séparation ; il en existe de deux sortes :

Les plus courantes sont des colonnes à remplissage, contenant un matériau en poudre: c'est ce type que nous utilisons .

Les colonnes capillaires sont constituées par un long tube vide (jusqu'à 100 mètres) dont les parois servent elles-mêmes de support ; mais elles sont d'utilisation délicate .

Les colonnes sont en général en acier inoxydable ou en cuivre, car ces métaux ont très peu d'effet catalytique ; dans certains cas particuliers, on utilise le verre (pour les hormones), l'argent, et plus rarement, les matières plastiques .

La longueur des colonnes à remplissage est en général comprise entre 0, 50 et 6 mètres, mais atteint le plus souvent 3 mètres .

Le diamètre intérieur est en général de 2 millimètres car, à remplissage identique, les colonnes de petit diamètre donnent les meilleurs résultats . Une colonne de 3 mètres, par exemple, doit être enroulée en hélice sur un mandrin après remplissage ; pratiquement, les effets du bobinage sont insensibles si le diamètre de la bobine est supérieur à vingt fois le diamètre de la colonne .

La colonne doit être garnie d'un support inerte et poreux sur lequel est réparti le produit non volatil constituant la phase stationnaire ; la préparation de ce mélange nécessite une imprégnation régulière qui s'obtient en mélangeant les grains du support avec une solution du produit non volatil et en chassant ensuite le solvant . Il faut choisir un support répondant autant que possible aux qualités suivantes :

- une inertie physique et chimique ,
- une grande surfaxe spécifique ,
- une bonne résistance mécanique,
- une bonne stabilité thermique,
- une bonne porosité,
- une adsorption nulle vis-à-vis des solutés analysés.

Les supports poreux sont les plus utilisés . Ils sont faits de diatomite ou kieselgur, formation sédimentaire due à l'accumulation de carapaces siliceuses de diatomées . Il existe de nombreuses variétés de supports proposées par les fabricants et préparées en fonction des nécessités de la chromatographie gazeuse . C'est ainsi que l'on trouve les supports lavés à l'acide pour éliminer les traces de fer ; d'autres traités par les dérivés organiques du silicium pour une élimination poussée de l'adsorption, soit par le diméthylchlorosilane (D. M. C. S.), ou encore par l'hexaméthyldisilazane (H. M. D. S.) .

Dans certains cas, on revêt le support d'un solide (polyvinylpyrrolidone, argent, Teflon) par exemple pour l'analyse des stérols dont la molécule est très fragile .

Enfin , on a utilisé parfois des supports pratiquement non poreux, très petites billes de verre, téflon, graphite, etc . . .

Le choix de la phase stationnaire conditionne en grande partie le succès de l'analyse ; elle ne doit pas pouvoir réagir chimiquement sur les solutions analysées . Elle doit présenter une bonne stabilité sur le support . Elle doit être choisie pour pouvoir agir entre certaines limites de températures ; à la température maximale d'utilisation, elle ne doit pas présenter de volatilité ni de signes de décomposition ; la température minimale d'utilisation ne doit pas descendre au-dessous de son point de cristallisation .

Dans le choix d'une phase, il faut considérer sa polarité ; on sait qu'un acide organique est hautement polaire, tandis qu'à l'opposé, un hydrocarbure ne l'est pas ; les molécules hautement polaires ont une attraction réciproque qui tend à augmenter leur solubilité l'une dans l'autre et qui aura lieu non seulement entre atomes d'H, mais avec des atomes fortement électronégatifs : F , Cl, O, N ; cette association est appelée "liaison hydrogène". C'est ainsi qu'il y aura liaison hydrogène entre deux groupes d'hydroxyles d'alcools .

Les auteurs ont donné un classement de la polarité relative des phases stationnaires ; nous n'en citerons que quelques-unes en allant de la moins polaire à la plus polaire : squalane, huile silicone, diéthylformamide, polyéthylène glycol, β , β'dioxyproprionitrile . Voici, dans le même ordre, (de façon croissante), la polarité des principales fonctions : hydrocarbures, silicones, éthers, esters, nitriles, amines, alcools, acides carboxyliques .

Enfin, la détection a son importance; un bon détecteur doit être sensible, fidèle et sélectif . Il y a deux grandes méthodes de détection : la méthode intégrale et la méthode différentielle; c'est dans cette dernière que se classe le détecteur à ionisation de flamme ainsi que le catharomètre qui sont les plus utilisés .

Le catharomètre est basé sur la mesure de la conductivité thermique des gaz ; un fil chauffé électriquement est monté en pont de Wheatstone; le passage des gaz sur le fil entraîne des variations dans sa conductivité thermique, entraînant à leur tour des variations dans l'équilibre de température du fil et, en conséquence, des modifications de résistance qui déséquilibrent le pont .

Le détecteur à ionisation de flamme utilise la combustion des composés entraînés par le gaz porteur dans une flamme à hydrogène et oxygène ; il se forme des ions induisant un courant électrique qui circule entre deux électrodes, séparées par quelques millimètres et portées à un potentiel constant . Ce courant est ensuite amplifié et dirigé sur l'enregistreur qui fournit le chromatogramme .

Voici, résumées, les caractéristiques de nos diverses expériences :

Gaz porteur : Azote R de l'Air Liquide

Colonne : en acier inoxydable de diamètre intérieur égal à 2 mm longueur 2, 50m

Support : chromosorb G
diatomites traitées spécialement, lavées à l'acide et imprégnées de D. M. C. S.

Phases liquides : Hallcomid pour vérification de temps de rétention, mais le plus souvent polyéthylène glycol 400 dans la proportion de 10% du support .

Fonctionnement :

On fait d'abord circuler le gaz porteur à la vitesse indiquée, soit environ 20 ml/minute .

On met en marche le chauffage du four de vaporisation et celui de la colonne; lorsque la température désirée est obtenue , on installe le détecteur à ionisation de flamme ; on fait circuler l'H et l'O et on enflamme le mélange ; on met le contact avec le détecteur et on attend que l'appareil soit stabilisé . On règle à la sensibilité désirée et on met en marche l'enregistreur . A ce moment, on peut injecter le produit à analyser .

TECHNIQUES :

1°- Essais, effectués sur des broyats

a) Feuilles, petits fruits verts, fleurs :

On commence les manipulations le plus près possible du moment de la cueillette, en général une demi-heure après celle-ci .

Un poids X plus ou moins important (5 à 50 grammes) 5 grammes le plus souvent, est placé en présence de 200 à 300 ml d'eau à 4° dans un broyeur préalablement refroidi ; l'eau et le broyeur étant à température convenable après séjour dans un réfrigérateur , le broyage dure 30 secondes en général, mais on peut augmenter la durée du broyage pour certaines expériences .

On centrifuge aussitôt à 3000 t/m pendant une minute, de façon à obtenir un liquide sans particule solide; la totalité du surnageant, à peu près limpide, est filtré sur coton et aussitôt soumis à l'entraînement par la vapeur d'eau ; on recueille 40 à 50 ml de ce premier distillat, qui sont mis dans un petit ballon pyrex surmonté d'un réfrigérant ascendant Vigreux de 25cm de long ; le ballon surmonté du réfrigérant est placé dans un chauffe-ballon électrique réglable . On recueille les premières parties du deuxième distillat 0,5 ml à 1 ml (0,5 ml en général) .

b) Fruits : gros fruits verts :

Sitôt récoltés, ils sont mis dans un bocal de verre pour être amenés au laboratoire où ils sont placés, durant une demi-heure environ au réfrigérateur . De ces fruits, on obtient un jus grâce à un mixeur préalablement refroidi lui aussi . On tache d'obtenir au moins 50 ml de jus et si possible 300 . On centrifuge aussitôt et on continue les manipulations décrites en a .

La quantité de distillat recueillie sera la centième partie du jus préparé . On obtient ainsi un distillat cent fois plus concentré par rapport au jus initial quant aux produits volatils dont nous nous occupons .

En effet, en recueillant le distillat par fractions de 0,5 ml dans nos conditions opératoires, on constate par chromatographie gazeuse qu'au moins 95 pour cent des produits volatils intéressants pour nos recherches , passent dans le premier 1/2 centimètre cube recueilli au début de la distillation .

On ne recueille donc pas un volume supérieur qui diminuerait la concentration du distillat en produits volatils .

c) Fruits mûrs ou fruits du commerce ou raisins mûrs intacts :

Avant de les refroidir, on les lave et on les sèche, ceci dans le but d'éliminer les produits fixés aux

téguments, qui pourraient provenir du contact d'autres fruits altérés ou ayant plus ou moins fermenté . On continue l'opération comme pour les fruits verts, en vue d'obtenir environ 300 ml de liquide centrifugé, et on recueille 3 ml de distillat . On pourra ainsi,si la teneur est assez élevée, faire un dosage chimique de l'éthanol .

2°- Essais effectués sur des plantes entières ou sur des organes végétaux .

Pour la recherche des produits volatils présents dans les organes végétaux et condensables sur une paroi refroidie par la glace carbonique, nous avons utilisé le dispositif schématique (planche Ap) fig. 6 et 7 , il s'agit de ballons de 4 litres qui ne diffèrent que par le diamètre du col . Dans le ballon de la fig. 7 il est facile de placer jusqu'à 2 kilogrammes de fruits .

Avec les ballons des fig. 6 et 7, il est possible de manipuler sous vide et de condenser les produits volatils dans un gros tube (fig. 3 ou 4) placé dans la glace carbonique .

On peut aussi faire circuler un gaz purifié (air ou azote) qui entraînera les composés exhalés ; l'ensemble, gaz purifié et composés exhalés, passeront dans un des tubes schématisés en 1 ou 2 ou 4 , plongeant dans la glace carbonique .

On peut enfin adapter ce matériel de condensation (ou refroidissement) pour faire circuler les gaz et vapeurs dégagés par les plantes in situ . On utilise une cage du modèle représenté sur la fig. 5, elle est formée d'un bâti fait de tubes de fer, bâti qui sert de support à une feuille de polyane ; le polyane utilisé en jardinage est un plastique à peu près transparent et perméable aux rayons solaires .

Ce polyane ferme complètement la cage, sauf à sa partie inféro-basale où on laisse un espace libre de quelques centimètres de haut au-dessus du sol pour permettre le passage de l'air atmosphérique .

A la partie supérieure de la cage, un orifice permet l'introduction d'un tube de caoutchouc par lequel seront aspirées les émanations de la plante, qui passeront ensuite dans l'un des dispositifs de condensation précédemment décrits .

La glace carbonique est placée dans un grand becher de 6 litres, lui-même placé dans une enceinte isothermique constituée par une caisse dont les parois sont faites de laine de verre et épaisses de 15 cm . Le couvercle de ce coffre, également garni de laine de verre, est divisé en deux parties et comporte un orifice médian permettant le passage des tubes (fig. 7) .

Ce n'est pas sans raison que nous avons utilisé préférentiellement un des trois types de tubes décrits.

Le tube n°1 convient à l'étude d'un courant gazeux peu chargé en humidité . Par contre, lorsqu'on recueille les gaz émanant de plante in situ, et surtout en été, il se forme de la glace qui bouche le tube et arrête le courant gazeux : avec le tube n°2 on évite cet inconvénient .

Le serpentin n°4 donne un meilleur rendement si on opère en présence de courant d'air dans les expériences in vitro .

En opérant dans le vide à la température ordinaire, ou même en faisant circuler un gaz sur les organes végétaux, on obtient en général quelques gouttes de "condensat" que l'on peut injecter directement dans le chromatographe porté à une grande sensibilité .

Dans le cas de plantes in situ, et particulièrement en été, on obtient un condensat abondant, parfois des dizaines de ml; on distille alors dans le petit appareil décrit plus haut et on recueille un ml.

Si on obtient seulement de fines gouttelettes sur les parois du tube à vide, on rince le tube avec quelques ml d'eau distillée et on distille ensuite dans le petit appareil à reflux; on recueille 0,5 ml.

DOSAGES CHIMIQUES :

1°- Ethanol par la méthode CORDEBARD ou nitrochromique (38)

Dans le cas de nos recherches, la prise d'essai est de 0,2 à 2 ml ; elle nous est suggérée par l'importance du pic de l'éthanol obtenu dans le chromatogramme.

A la prise d'essai, on ajoute aussitôt 4 ml d'eau distillée, 10 ml de la solution nitrique de bichromate de potassium N/20 ; le tout est placé dans un vase bouché à l'émeri et abandonné au repos pendant 10 minutes. Au bout de ce temps, on ajoute 100ml d'eau distillée , 10 ml de solution d'iodure de potassium à 5 pour cent . On verse alors la solution de thiosulfate de sodium N/20 jusqu'à décoloration .

Soit n le nombre de millilitres de thiosulfate versé .

On aura :

$$\text{Ethanol en mg par litre} = (10-n) + 0,575 \times 10$$

2°- Dosage du méthanol :

La méthode de dosage du méthanol après oxydation en formol puis condensation avec l'acide chromotropique est très sensible et spécifique (39) .

Plusieurs variantes ont été proposées. Voici celle que nous avons utilisée et qui nous semble bien au point :

Dans un tube à essai, on place 0,1 à 1 ml de distillat ; on ajoute de l'eau si nécessaire pour compléter à 1 ml.

- Verser ensuite :
  . 0, 15 ml d'acide phosphorique à 50 pour cent .
  . 0, 25 ml de permanganate de K à 1 pour cent .
- Laisser en contact 10 minutes .
- Décolorer ensuite par une ou deux gouttes de solution de bisulfite officinal .
- Placer le tube dans l'eau glacée; ajouter alors en agitant avec soin, 4 ml d'acide sulfurique pur, verser ensuite 0, 2 ml d'une solution d'acide chromotropique à 5 pour cent .
- Boucher le tube et porter au bain-marie pendant 30 minutes .
- Simultanément, on a préparé dans les mêmes conditions un blanc ou témoin et une gamme étalon, avec des solutions de méthanol pur à des concentrations croissantes ; ce qui permet un dosage colorimétrique approximatif mais suffisant .

Remarques :

Signalons pour le lecteur qui n'est pas habitué à la chromatographie gazeuse qu'il ne faut pas s'étonner de voir des reproductions de chromatogrammes avec des temps de rétention un peu différents .

Cela tient au fait que toutes les recherches n'ont pu être faites avec une même colonne car sa sensibilité s'atténue au bout d'un certain temps .

Le temps de rétention de chaque colonne n'est jamais exactement le même . Comme on repère tous les pics à l'essai d'une colonne neuve, il ne peut y avoir d'erreur .

Pour faciliter l'interprétation, nous allons indiquer à propos du chromatogramme n°6 de la planche Vi (chap. VIII) et qui est très typique, l'ordre des pics représentant les différents composés oxygénés ; en allant de la droite vers la gauche on trouve : méthyle oxyde éthyle, éther, éthanal, propanal, acétone, acétate d'éthyle, butanone, méthanol, éthanol . Cet ordre de sortie est caractéristique de la phase Carbowax 400 .

NOMENCLATURE DES PLANCHES

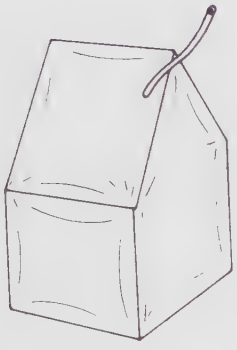
- La planche Ap correspond au chapitre sur le matériel et techniques .
- C sur les bourgeons
- A sur les fleurs
- B sur les feuilles
- Eth sur la présence d'éthers dans les plantes
- Vi sur l'évolution des composés oxygénés dans la vigne
- Mt sur l'importance du méthanol dans les plantes
- Vg sur les gaz exhalés par les plantes .

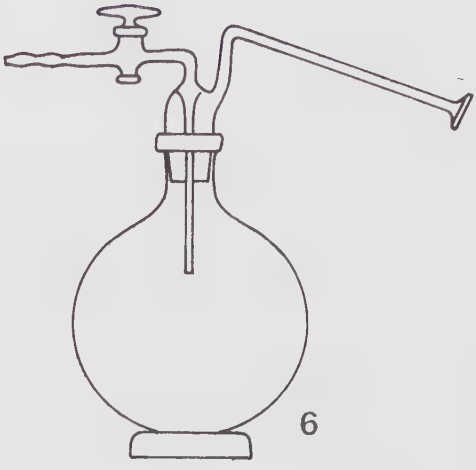
1

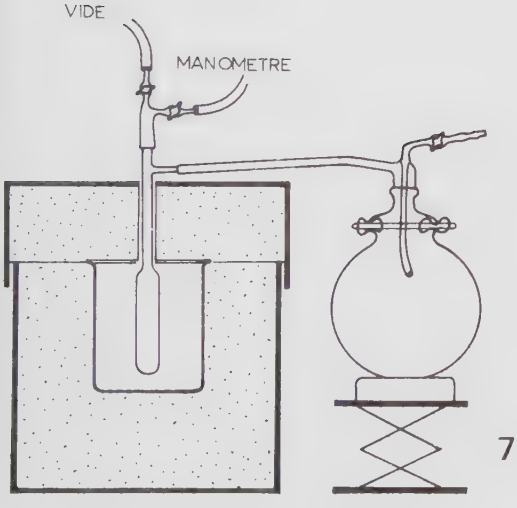
2

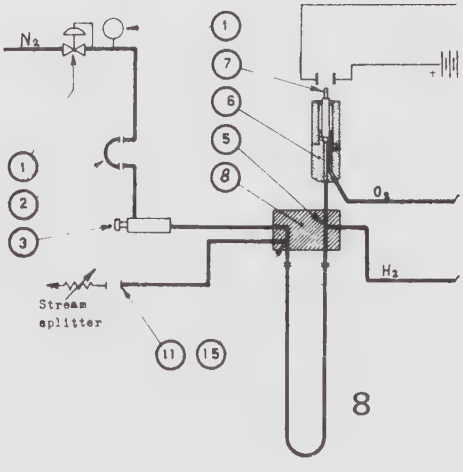
3

4


5


6


VIDE
MANOMETRE
7


N2
1
7
6
5
8
1
2
3
O2
H2
Stream
splitter
11
15
8

AP

CHAPITRE III

ETUDE SUR LES BOURGEONS

Sur la planche C, examinons les chromatogrammes 1, 2, 3, 4, concernant les bourgeons de cerisier.

Le graphique n° 1 a été obtenu en février, le n° 3 en Octobre, le n° 4 en Janvier . Nous constatons que dans tous, l'éthanol domine et particulièrement dans le n° 2 .

Le méthanol, présent sur tous les graphiques, est surtout abondant dans l'expérience faite en Octobre; Acétone et acétaldéhyde sont en quantité appréciable dans tous ; on remarque une légère présence d'acétate d'éthyle et de propanal dans le 3 .

Des numéros 5 à 10 inclus, les chromatogrammes ont été obtenus à partir de bourgeons à fleur de poirier William et Clairgeau ; le n° 5 au début de Janvier . Les seuls pics nets sont ceux de l'éthanol, acétone, acétaldéhyde ; le n° 6 provient des bourgeons à bois de la variété clairgeau .

Fin Février, sur le n° 7 obtenu à partir de bourgeons à fruits de la même variété clairgeau, on constate la présence en quantité relativement importante d'éthanol, la présence nette d'éthanal, acétone, des traces de butanone, propanal, éther .

Lorsque nous regardons les chromatogrammes 8, 9, 10, nous constatons une inversion des quantités d'alcool , c'est-à-dire qu'ici il y a une proportion plus grande de méthanol que d'éthanol .

Les n°8 et 9 dûs aux bourgeons récoltés au milieu de Mars, juste avant la floraison, contiennent les mêmes corps, mais dans des proportions différentes ; cela tient à ce que la récolte n'a pas été faite le même jour .

Le n° 10 a été obtenu quelques jours plus tard, à partir de bourgeons éclatés ; les n° 9 et 10 présentent une quantité d'acétone et d'éther plus importante que le n°8 .

Les chromatogrammes 11 et 12 montrent les résultats obtenus respectivement avec des bourgeons à fruits et avec des bourgeons à bois de pommier Canada, fin Février ; on remarque la présence constante d'éthanol, mais en quantité plus abondante dans le 12 .

Le 13 a été obtenu dans les mêmes conditions que le 12, mais avec une atténuation beaucoup plus importante ; on constate alors que seul, l'éthanol donne un pic appréciable car il existe en quantité assez importante .

Le chromatogramme n°14 a été obtenu avec des bourgeons de prunier Golden recueillis au milieu de Février : nous pouvons constater une certaine similitude avec le n°6 (poirier) .

Le n°15 a été obtenu à partir de bourgeons de vigne muscat, au milieu d'Avril ; on y retrouve tous les pics déjà vus, mais il faut souligner la présence d'éthanol en quantité beaucoup plus faible et, par contre, celle d'éther en quantité beaucoup plus grande .

Les figures 16 à 20 concernent les bourgeons de lilas ; 16 et 17 ont été obtenus au milieu de mars; 18 et 19 au milieu de Novembre de la même année .

En examinant la figure 16, on voit deux pics très importants particulièrement celui de gauche, qui représente le bloc méthanol-éthanol, celui de droite, le bloc acétone-éthanal; le petit pic à droite est celui de l'éther .

Le chromatogramme 17 a été obtenu dans les mêmes conditions que le 16 , mais avec une atténuation, ce qui permet de voir le pic à peine esquissé de

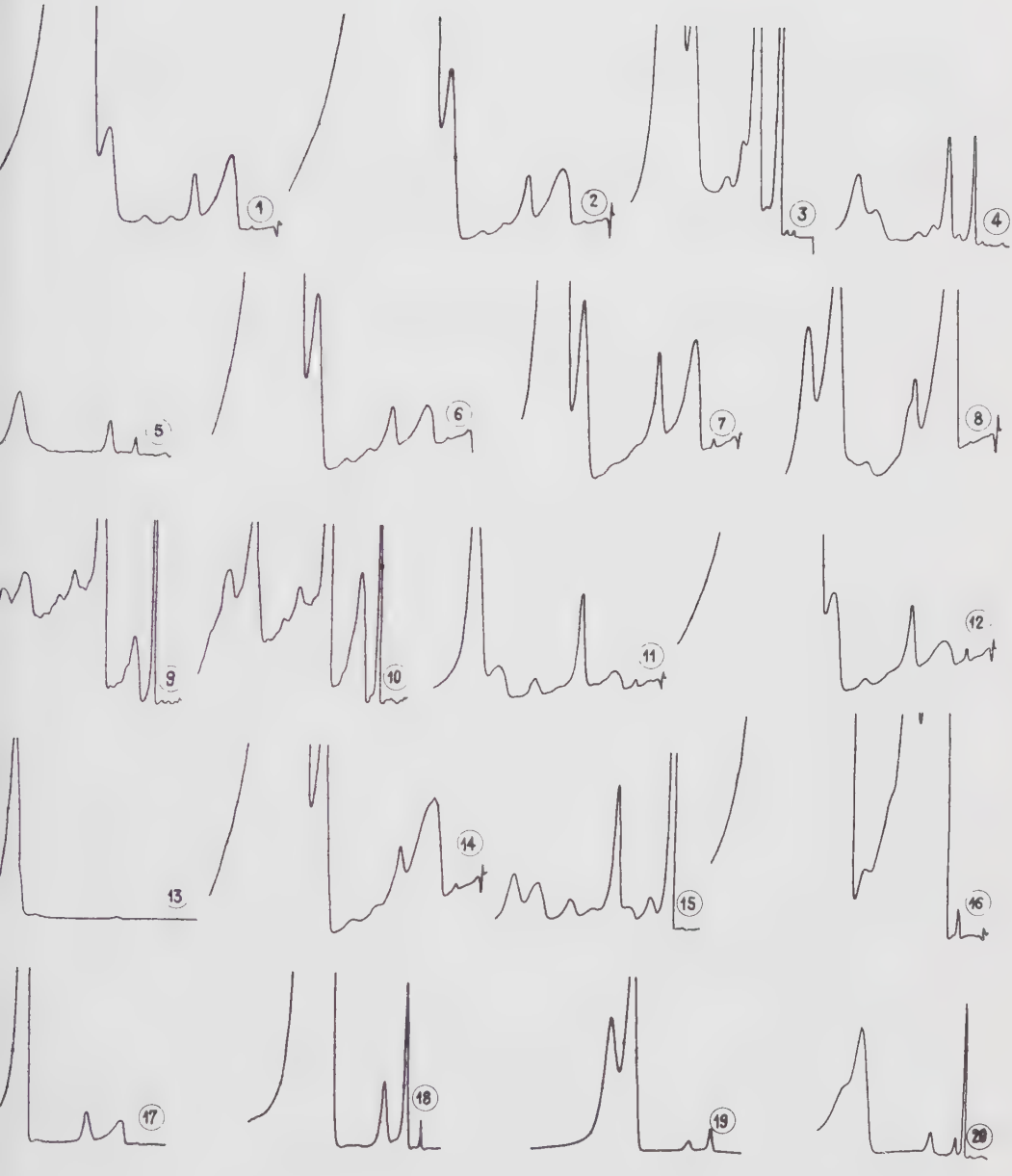
l'éthanol se détacher du pic très net du méthanol; nous n'avons donc plus le bloc éthanol-méthanol. Il y a deux petits pics représentant l'acétone et l'éthanal .

Nous allons retrouver avec les figures 18 et 19 les mêmes caractéristiques que dans les 16 et 17. Dans le 18, il y a un seul gros pic représentant méthanol et éthanol, tandis que ceux de l'acétone et éthanal sont faibles .

Dans le 19, l'atténuation dévoile les pics de l'éthanol et méthanol confondus à leur base seulement : ceci permet de se rendre compte que la quantité de méthanol est plus importante que celle de l'éthanol ; l'acétone et l'éthanal donnent des petits pics ; l'éther n'apparaît plus .

En 20, nous avons un chromatogramme obtenu avec des bourgeons ramassés au début de Janvier , environ deux mois après le 18 avec une atténuation égale à celle du 18 ; on voit que tous les corps sont en quantité moindre, sauf l'éther à droite ; ici aussi il y a une plus grande quantité de méthanol que d'éthanol .

Cette étude sur les bourgeons nous permet de mettre en évidence la présence constante de méthanol en quantité appréciable et supérieure à celle de l'éthanol .



C

CHAPITRE IV
ETUDE SUR LES FLEURS

Si nous considérons la planche (A), nous trouvons, dans tous les chromatogrammes, de façon nette : éthanol, méthanol, acétone, éthanal ; quant à la butanone, à l'éther, on les trouve quelquefois en quantité appréciable; le méthyl oxyde éthyl apparaît rarement de façon nette . En somme, on retrouve les mêmes corps à des taux variables .

Examinons les figures 1, 2 , 3 représentant respectivement les produits obtenus à partir de fleurs entières de prunier, cerisier, pommier ; on constate surtout une différence dans la teneur relative en méthanol qui est plus abondant que l'éthanol dans la fleur de prunier Golden Japan ; les quantités de méthanol et d'éthanol sont assez semblables pour les fleurs de cerisier (précoce de la marche) et de pommier Canada . La fleur de prunier est pauvre en acétone par rapport aux autres fleurs, et c'est la fleur de cerisier qui contient le plus d'éther .

La figure 4, fleur de lilas est caractérisée par une forte présence de méthanol par rapport à l'éthanol et l'éthanal .

Les figures 5 et 6 sont obtenues respectivement à partir de pétales et du reste de la fleur de pêcher (variété "euréka"); la quantité d'éthanal est importante dans les deux . Le méthanol et l'éther sont plus abondants dans les pétales .

Les figures 7 et 8 sont obtenues respectivement avec les pétales de pommiers Canada et de rosier qui diffèrent surtout par leur teneur en éthanol .

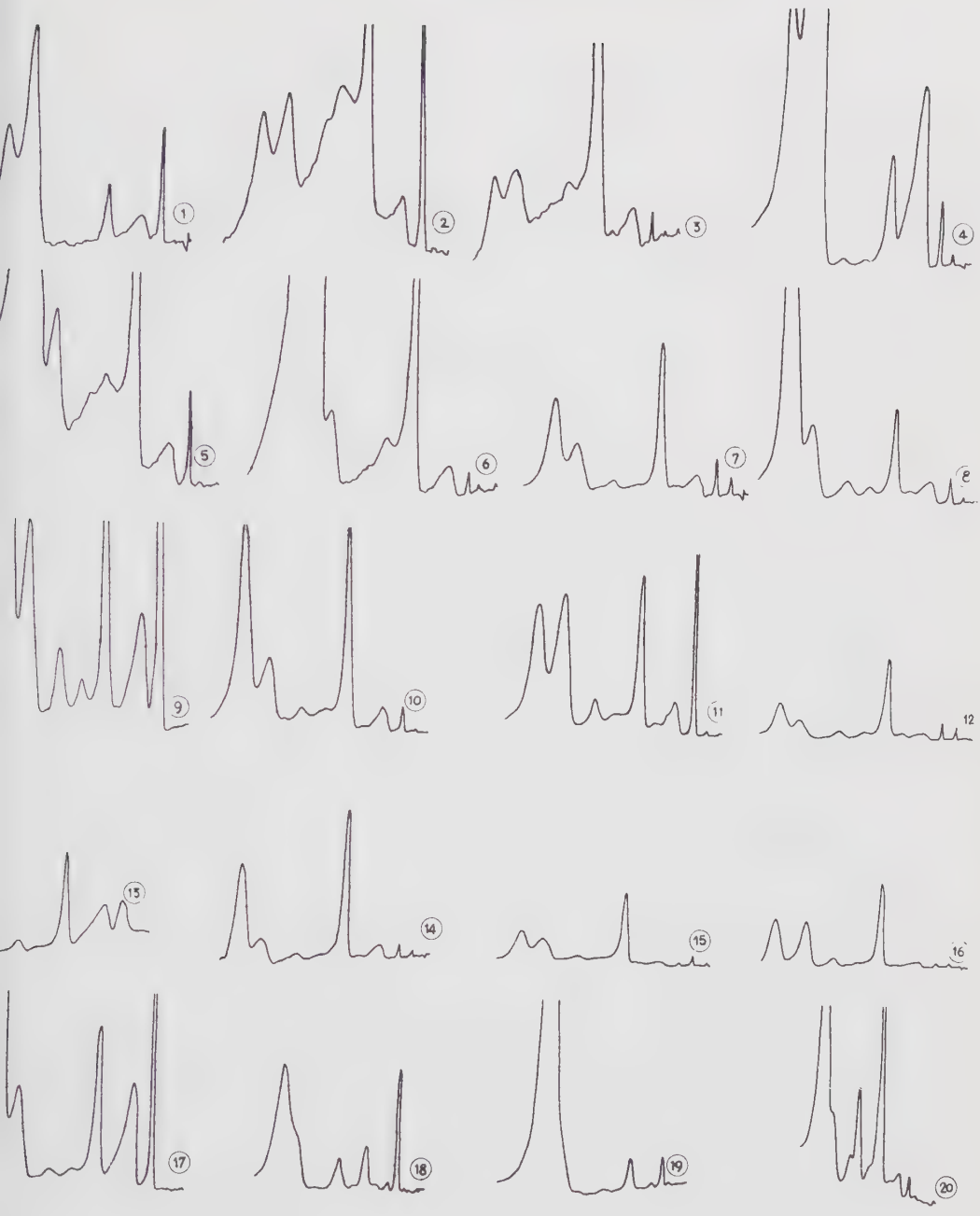
Les figures 9, 10 et 11 ont été obtenues à partir d'un même lot de fleurs de cerisier (précoce de la marche) dans l'ordre suivant : pétales, fleurs privées seulement de leurs pétales, pédoncules : la différence entre ces trois chromatogrammes porte sur la présence abondante d'éthanol et d'éther dans les pétales;dans les pédoncules, on remarque que méthanol et éthanol existent en quantité à peu près équivalente ; il y a beaucoup plus d'éthanol que de méthanol dans les pétales et les fleurs privées de pétales·

Les figures 13, 14, 15 ont été fournies par le même lot de fleurs de fraisier, en tenant compte du fait que les chromatogrammes 13 et 14 ont été obtenus respectivement avec 1 gramme de pétales et 1 gramme de pédoncules, que le 14 provient de 5 grammes de fleurs privées de leurs pédoncules et de leurs pétales; on peut admettre que les pétales, là encore, contiennent beaucoup plus d'alcool et autres composés que les autres constituants de la fleur .

La fleur entière de robinier, figure 16, contient surtout éthanol, méthanol, acétone, les deux alcools sont en quantités à peu près égales .

Le chromatogramme n°20, dû à des fleurs de vignes, a été obtenu avec une colonne différente, ce qui a rapproché les divers pics ; on constate une présence très nette d'éthanol, acétone et une quantité non négligeable d'acétate d'éthyle .

Cette étude nous montre que les pétales semblent la partie la plus riche en produits volatils (les figures 5, 9, 13, 17 surtout), en éthanol , et également en éther et acétone ; la quantité d'éthanol est presque toujours supérieure à celle du méthanol, exception faite pour les pédoncules de fleurs de cerisier où les taux sont à peu près égaux et pour la fleur de lilas où il y a beaucoup plus de méthanol que d'éthanol .



A

CHAPITRE V
ETUDE SUR LES FEUILLES

Nous retrouvons, planche (B) avec quelques petites différences, les corps volatils que nous avons mis en évidence dans les bourgeons et les fleurs .

Parmi les composés les plus abondants, on note : éthanol, méthanol, acétone, éthanal et, en quantité faible : butanone, acétate d'éthyle, propanal, éther diethylique .

Les chromatogrammes de la planche B n° 1 à 8 inclus, ont été obtenus avec des feuilles de vigne , mais à des époques différentes ; chaque expérience a été faite dans des conditions identiques à partir de 5 grammes de feuilles provenant de la même branche (fig. 1, 3, 5 à la base, 2, 4, 6 au sommet) .

Les chromatogrammes 1 et 2 ont été réalisés au milieu de Mai, 3 et 4 au milieu de Juin, 5 et 6 fin Juin.

L'examen des figures 1 et 2 montre deux chromatogrammes à allure semblable, dont les seules différences sont d'ordre quantitatif et surtout marquées pour l'acétone .

Si on compare les n° 3 et 4, on voit que le 3 montre beaucoup plus d'éthanol que le 4 .

Sur les fig. 5 et 6, il y a une très faible proportion de méthanol, mais le 5 contient beaucoup plus de butanone et d'acétone que le 6 .

Le chromatogramme 7 a été obtenu en automne avec les feuilles rouge brun et le n° 8 avec les feuilles encore vertes du même pied ; on retrouve les mêmes pics dans les deux essais, mais le n°7 contient plus d'acétone que le n°8 .

Le n°9 provient de feuilles de pommiers canada récoltées début novembre, le n°11 au milieu de Mai; on trouve un pic indéterminé en 11, quant aux autres pics retrouvés dans ces deux chromatogrammes, ils ne diffèrent que par leur importance quantitative .

Le chromatogramme n°10 a été obtenu à partir de feuilles de cerisier ; il ressemble au n°9 mais présente plus de butanone et d'acétone .

Le n°12 provient de feuilles de poirier William, le n°13 de feuilles d'abricotiers, le n°14 de feuilles de noisetier, le n°15 de feuilles de fraisier, les n°16 et 17 de feuilles de dahlia, le n°18 de feuilles de chou de Milan, le n°19 de feuilles du lyciet, le n°20 de celles du chèvrefeuille . On retrouve, dans tous ces chromatogrammes en général les mêmes pics, mais de dimensions différentes . A partir du n°12, les feuilles ont été récoltées ou recueillies début Novembre .

Signalons que les n°16 et 17 proviennent du même pied de dahlia , récoltées à 4 jours d'intervalle : mais la veille de la récolte du n°17, il y avait eu une gelée matinale et les feuilles étaient noirâtres . On constate dans ce cas la disparition presque complète de la butanone et du propanal .

On ne peut que constater la variation des composés oxygénés selon la période de la cueillette : suivant les organes de chaque plante et suivant les différentes parties de chaque organe et aussi les conditions atmosphériques . Nous pensons qu'il serait nécessaire pour tenter de bien connaître l'évolution de ces corps, d'avoir à sa disposition un grand arbre (cerisier par exemple) et de faire des prélèvements quotidiens des différents organes en notant avec soin tous les facteurs météorologiques et climatiques et cela pendant une année entière .

B

CHAPITRE VI

ETUDE SPECIALE DE L'ETHANOL DANS LE FRUIT

Dans une causerie médicale , il avait été signalé que des malades en cure de désintoxication alcoolique par l'antabus présentaient des signes légers d'intolérance. L'expérience montre que le traitement à l'antabus n'entraîne des troubles que s'il y a ingestion simultanée d'éthanol . Or, ces malades ne buvaient en principe que des jus de fruits ; ces constatations, amenèrent à se demander si ces jus de fruits étaient légèrement alcoolisés ou si les malades avaient ingéré une boisson alcoolique en fraude .

Un travail présenté à la Société de Pharmacie (31) par MASQUELIER et VITTE montrait que les jus de fruits commerciaux qu'ils analysaient pouvaient contenir jusqu'à 1, 8 g par litre, soit 2, 3 ml d'éthanol .

A l'instigation des auteurs précités, nous avons continué la recherche et le dosage d'éthanol dans des jus de fruits préparés extemporanément selon la technique n° 1 C . Avec le liquide concentré selon les conditions indiquées, on obtient un chromatogramme dont l'examen donne une indication très nette sur la quantité d'alcool. Si elle est faible, moins d'un mg par litre de jus, le dosage sera fait par comparaison de ce pic avec ceux obtenus au moyen de solutions d'éthanol de titre connu .

Si la quantité d'éthanol est importante ce qui se voit par l'importance de son pic sur le chromatogramme, on fera un dosage chimique par la méthode nitrochromique de Cordebard .

La plus grande partie des résultats présentés ci-dessous a fait l'objet d'un article paru au Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux (32) de MASQUELIER et VITTE .

Nous avons simplement ajouté une quinzaine de dosages .

Une critique peut être faite à la méthode chimique : c'est de manquerde spécificité puisque le résultat est exprimé en éthanol, alors qu'il y a une oxydation plus ou moins accentuée des divers composés organiques ; mais si l'on compare la surface des autres pics à celle de l'éthanol, on se rend compte qu'elle est bien faible par rapport à celle de l'éthanol ; de plus, comme ce dosage n'a pas la prétention d'être d'une précision poussée à l'extrême le résultat obtenu correspond à peu près à la teneur en éthanol de ce jus .

Il est facile d'admettre ce que nous avançons par l'examen des chromatogrammes 11a et 11b planche Vi .

Ils ont été obtenus à partir du jus de raisin .

En 11b on voit un énorme pic, en 11a, avec une plus grande atténuation, on se rend nettement compte que la surface des autres pics est très faible par rapport à celle de l'éthanol .

On peut donc considérer que le dosage de l'éthanol est entaché d'une minime erreur par excès .

Ceci étant dit, va nous permettre de donner des résultats de dosage chimique (mg par litre de jus):

.....

1- Oranges :
. variété Navel (Maroc) 237-270-457-488-590 ,
. Navel (Espagne) 90-150-201 ,
. variété maltaise : 290 ,
. variété sanguine : 431 ,
. Outspan du Cap : 200 ,
. variété du Brésil: 474

2- Mandarines : 130-149

3- Clémentines : mûres : 23-85 , très mûres : 230
Wilking : 264

4- Pamplemousses : 420-800

5- Pêches : Euréka mûres : 53-68

6- Prunes Burbank : mûres 35

7- Melons du Gers : 157 , de Cavaillon : 121

8- Tomates des Canaries : 30, du pays : 52-71
Tomates ramassées sur le même pied et traitées dans l'heure suivant la cueillette :
. petites tomates vertes du sommet 9, 7
. grosses tomates rouges de la base : 46, 1

9- Pommes vertes : Golden 8, Bismark 7, Canada 5-9, 2 Benauge 6 ,
Pommes mûres : Golden 58, Canada 36, Benauge en Mars 57 , en Mai 86

10- Poires William vertes 5, 3 mûrissantes en Août 51, mûres 120-144, blettes 790
Poires Conférence, mûres 35-48, blettes 833
Poires Hardy, vertes 2, mûres 32 ,

11- Raisins : dans les différentes espèces :
verts 3 à 7, après véraison 10 à 20, mûrs 17 à 57 .

Après la lecture de ce chapitre, on peut se rendre compte que même les jus de fruits les plus riches en alcool ne peuvent avoir pratiquement aucune influence sur l'alcoolémie . En effet, un vin ordinaire contient environ 80g d'éthanol par litre soit une centaine de fois plus que les jus les plus riches, et les bières, une cinquantaine de fois plus .

Une absorption de jus de fruits non fermenté même à la dose de plusieurs litres ne présente aucun inconvénient .

CHAPITRE VII

SUR LA PRESENCE D'ETHERS DANS LES PLANTES

Les chromatogrammes de la planche ETH concernent le chapitre sur les éthers .

A notre connaissance, l'oxyde de diéthyle et le méthyloxyde éthyle n'ont pas été signalés dans les produits extraits directement des plantes .

L'éther avait été mentionné par ANDERSON (27) et STEVENS (19) . Mais étant mis en évidence après divers traitements des fruits, on pouvait se demander si l'on n'était pas en présence d'artefact . Par contre, nous n'avons trouvé aucune référence concernant le méthyl oxyde éthyle .

Dans un travail paru en 1968, LAUBIE et VITTE (28) avaient montré la présence de l'éther ; en effet , au cours de l'examen des chromatogrammes, l'attention avait été attirée par la présence presque constante de pics plus ou moins importants à temps de rétention très brefs, la phase utilisée étant comme d'habitude le carbowax 400 . A priori, on pouvait douter de la présence d'hydrocarbure léger puisqu'on obtenait le liquide à chromatographier après broyage, centrifugation, distillation.

D'autre part, la présence constante dans les plantes de composés oxygénés, éthanol, méthanol, acétaldéhyde, acétone, etc... permettait de penser à la présence possible d'éther-oxydes .

En consultant les tables de rétention de Preston (29), on obtenait un encouragement à vérifier cette hypothèse .

En employant des solutions très diluées d'éther et en opérant dans des conditions strictement identiques, à celles mises en œuvre avec les liquides obtenus à partir des végétaux, on pouvait constater la présence d'un pic à même temps de rétention . D'autre part, en ajoutant de très faibles quantités d'éther pur à un distillat de plantes fournissant ce pic, on augmentait sa surface sans faire apparaître de pic supplémentaire .

La confirmation était ensuite obtenue avec une autre phase .

Enfin, la certitude de l'existence du pic de l'éther a été établie par spectrographie de masse .

Nous avions constaté également la présence d'un pic à temps de rétention plus petit que celui de l'éther et dont l'importance était variable mais généralement faible .

En consultant les tables de rétention du carbowax 400, on se rend compte que parmi les composés possibles pouvant passer avant l'éther, il y a son homologue inférieur, le méthyl oxyde éthyle .

Nous allons exposer rapidement les essais qui nous permettent de dire que nous avons mis en évidence d'une façon presque certaine, la présence du méthyl oxyde d'éthyle dans les plantes .

Le Professeur LAUBIE avait fait des travaux (30) sur le chlorure de méthyl oxyde éthyle de mercure ; il en avait conservé quelques grammes qu'il a mis à notre disposition .

Sur ses conseils, nous avons traité ce sel dans un récipient approprié , par l'acide sulfurique au demi . Par un léger chauffage, nous avons obtenu un dégagement gazeux qui a barboté dans de l'eau glacée; cette solution injectée nous donne un chromatogramme avec un pic situé très près du point d'injection (fig. 1) (situé dans

nos conditions opératoires à 7mm du départ et nous le désignerons sous le nom de pic 7) .

En ajoutant à 1 ml de cette solution, un ml de solution d'éther très diluée, on obtient la fig. 2 où l'on voit un pic à 7 et un pic à 11 qui est celui de l'éther .

Ces résultats ont été obtenus sur Carbowax 400 et nous avons eu confirmation sur Hallcomid .

La figure 3 représente un distillat de feuilles de lilas . On y voit, en partant de la droite, un premier pic tout petit à 7, un pic un peu plus grand à 11 qui est celui de l'éther , si on dilue le distillat environ au tiers par la solution de méthyl oxyde d'éthyle, on obtient la figure 4, chromatogramme analogue mais dont tous les pics sont beaucoup moins importants sauf le pic 7 qui est nettement augmenté .

Pour avoir la certitude absolue que c'est bien le méthyl oxyde d'éthyle il faudrait l'obtenir par spectrographie de masse; cela ne nous a pas été possible jusqu'à présent, car le produit est très volatil et surtout , nous n'avons pas encore trouvé de plante où il se trouve en quantité suffisante pour cette expérimentation .

Ces deux composés ne seraient-ils pas des artéfacts ?

La réponse nous est fournie par les figures 19 et 20 représentant des chromatogrammes obtenus avec des gaz dégagés dans le vide par des poires encore vertes; on voit, à gauche du pic dirigé vers le bas, qui correspond au point d'injection, un tout petit pic, c'est le méthyl oxyde éthyle, et, lui faisant suite, un pic plus important marqué par une flèche, c'est l'éthyl oxyde éthyle .

Nous allons maintenant montrer des chromatogrammes qui possèdent presque tous les pics de ces deux éthers . Nous désignons par les lettres (m, o, e) le méthyl oxyde éthyle et par (e, o, e), l'éthyle oxyde éthyl ou éther ordinaire .

Les figures 5 et 6 ont été obtenues à partir de feuilles de vigne respectivement de variété muscat et dattier .

On retrouve les deux pics, l'éther étant plus important dans le chromatogramme n°6 .

Sur la figure 7 obtenue à partir de feuilles de poivrons doux, les deux éthers sont nettement plus abondants .

Sur la figure 8 réalisée avec des feuilles de jasmin et sur la 11 réalisée avec des feuilles de tomates, les deux éthers sont en proportions sensiblement égales.

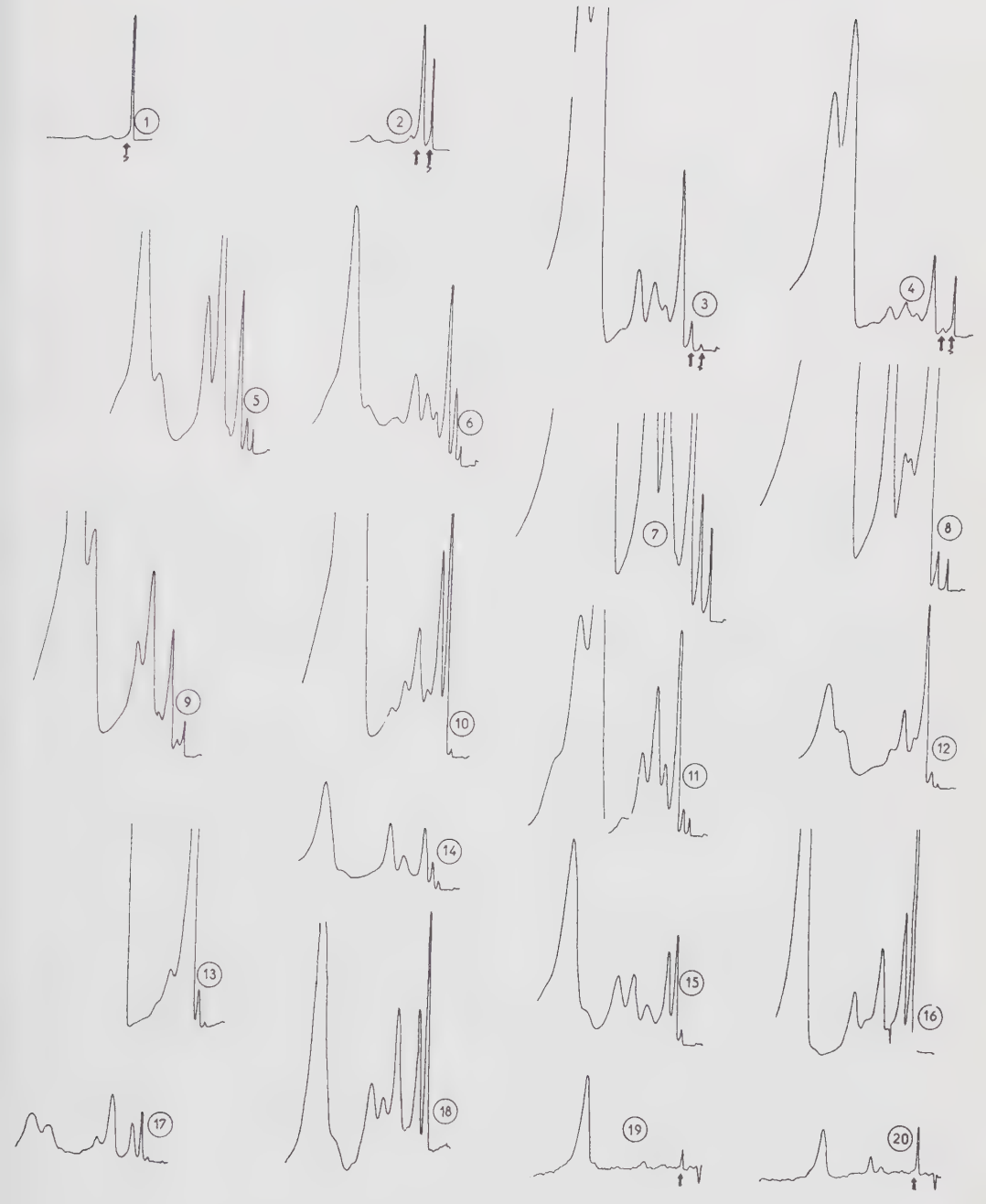
Sur la figure 10 faite à partir de feuilles de troène, la fig. 12 à partir de Forsytia, la fig. 13 à partir d'olivier, on remarque une très faible quantité de (m. o. e) mais la figure 10 montre beaucoup d' (e. o. e.).

Les figures suivantes, des n°14 à 18 ont été obtenues avec des jus de fruits frais préparés dans l'heure qui a suivi la cueillette .

Les figures 14, 15 et 17 proviennent respectivement de prunes Burbank, de pommes Canada encore vertes et de cerises précoces de la Marche, mûres . On voit nettement les pics de m. o. e. , et le pic de e. o. e. qui est relativement abondant .

Les figures 16 et 18 proviennent respectivement de cerises vertes de la variété ci-dessus, de poires William vertes : le pic de (m. o. e.) est pratiquement inexistant, tandis que celui de (e. o. e.) est très important.

L'examen de la planche ETH nous permet de dire que l'on rencontre presque partout les deux éthers avec la restriction mentionnée plus haut pour le méthyl oxyde éthyle ; à notre connaissance, la présence de ces deux corps n'avait pas encore été mise en évidence dans les plantes .



ETH

CHAPITRE VIII

EVOLUTION DES COMPOSES OXYGENES VOLATILS DANS LA VIGNE

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de suivre l'évolution des composés oxygénés volatils dans la vigne depuis le bourgeon au moment du gonflement jusqu'au jus de raisin obtenu à partir du fruit mûr .

Les chromatogrammes de la planche Vi ont été obtenus à partir de vigne variété Muscat de Hambourg (fig. 1) avec des bourgeons (fig. 2 à 6 inclus), avec des feuilles (fig. 7), avec des petits raisins entiers , (fig. 8) , avec les petits raisins sans les pédoncules (fig. 9), avec les pédoncules de l'infructescence (fig. 10), avec du jus de raisin muscat vert;(fig. 11b) avec du jus de raisin de muscat mûr,(fig. 11a) avec le même jus mais l'atténuation étant de 32 fois .

Pour obtenir les chromatogrammes des feuilles et des petits raisins, nous avons opéré chaque fois sur 5 g, l'appareil fonctionnant toujours dans les mêmes conditions . Le jus a été obtenu dans les conditions identiques au chapitre de la technique, l'atténuation pour 10 et 11b étant la même .

Examinons en détail chaque chromatogramme .

Chromatogrammes

n°1- En partant de la gauche, les pics éthanol et méthanol sont peu importants : ceux de la butanone et acétate d'éthyle très faibles . Acétone et éthanal sont très nets ; entre eux, un pic à peine esquissé, non déterminé, avec à sa droite le pic du propanal . Après l'éthanal, on voit l'éther présent en très faible quantité .

n°2- Provient de feuilles peu développées (fin avril) . On ne voit que 5 pics : l'éthanol relativement important, méthanol, acétone, éthanal faibles, éther très petit.

n°3- Fourni par des feuilles ramassées au milieu de Mai. Pic éthanol peu important ; celui du méthanol à l'état de traces ; acétone et éthanal très nets , propanal et les deux éthers oxydes faibles .

n°4- Provient de feuilles ramassées fin Juin; éthanol et éthanal sont assez importants : propanal et acétone nets ; quant aux méthanol, butanone, acétate d'éthyle et les éthers ils ne sont qu'à l'état de traces .

n°5 et 6 : obtenus avec des feuilles récoltées début octobre; elles proviennent du même pied de Muscat : les n°5, provient de feuilles rouge-brun et le n°6, de feuilles encore vertes, les deux échantillons préparés et traités dans des conditions identiques . En comptant l'éthanol on trouve, dans les deux, 9 pics. On remarquera que dans la feuille verte ils sont plus importants .

n°7- A été obtenu à partir de très petits raisins Muscat entiers à la même époque que le n°3 . On voit 9 pics mais d'importance très inégale : l'éthanol est énorme par rapport aux autres .

n°8 et 9 : proviennent des mêmes petits raisins Muscat mais le n°8 des petits fruits seulement et le n°9 avec les pédoncules de l'infrutescence . En les comparant, on est frappé par la très grande différence de l'éthanol dans chacun d'eux .
Nette différence également pour l'acétone, l'éthanal et l'éther .

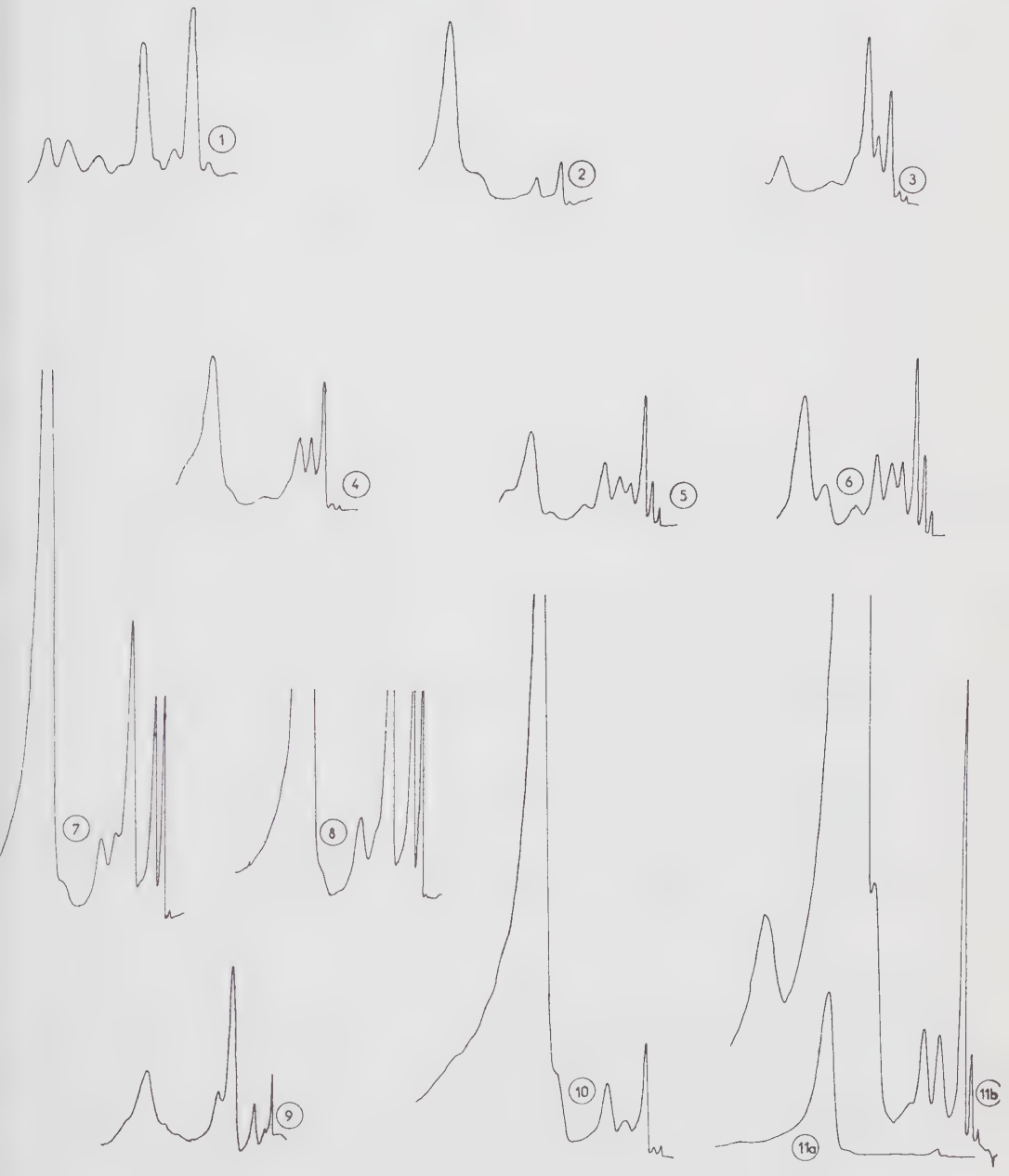
n°10- provient du jus de muscat vert fin Août . L'éthanol est en quantité énorme par rapport aux autres composés, il nous a été possible de faire un dosage chimique sur 2 ml de distillat et le taux obtenu est de 6, 8 mg par litre de jus .

n°11b a été obtenu un mois plus tard avec des raisins mûrs . La fig. 11a montre un pic d'éthanol encore plus important ; des pics très nets de méthanol et éthanal ; les autres sont faibles ou très faibles .

n°11a provient du même distillat que n°11b mais atténué 32 fois . Dans ces conditions, seul le pic de l'éthanol est net , méthanol et éthanal sont à l'état de traces, les autres ont disparu .

On peut conclure de cette étude , que l'éthanol est présent dans les feuilles et dans les fruits depuis le bourgeon jusqu'au jus de raisin où il est relativement important .

Quant aux autres composés, ils sont en quantité variable, l'éthanol étant en plus grande quantité dans le jus de raisin mûr (n°11b) que partout ailleurs .


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11a
11b

CHAPITRE IX

RECHERCHES SUR LES GAZ EXHALES PAR LES PLANTES

Nous allons donner les résultats obtenus avec les gaz émis par des parties de plantes (fig. 1 à 8 incluse) planche Vg et aussi à partir de plantes entières in situ (fig. 9 à 20 incluse) même planche .

Nous avons suivi le mode opératoire décrit au chapitre des techniques .

Sauf avis contraire, nous analysons les produits recueillis après séjour des organes végétaux dans le vide durant 24 heures . In situ l'expérience est de même durée .

Figure 1, nous présentons le chromatogramme obtenu avec 1 kg de cerises mûres variété bigarreau, placées une heure environ après leur cueillette dans le ballon n°6 planche Ap . L'opération est faite dans le vide et les gaz sont recueillis dans le tube n°3 (Ap) .

A partir de la gauche, on voit 10 pics de grandeur inégale, d'abord un pic relativement important par rapport aux autres : il correspond à l'éthanol; puis de petits pics correspondant au méthanol, butanone, acétate d'éthyle ; ensuite un pic important : l'acétone . Lui faisant suite , on trouve le propanal, un très léger pic non identifié, puis l'éthanal et, enfin, l'oxyde de diéthyl puis le méthyl oxyde d'éthyl .

Le chromatogramme n°2 a été obtenu au mois de Novembre, à partir de 200g de bourgeons de cerisier (variété précoce de la Marche), placés dans le vide . Le nombre de pics est moins grand : il n'y en a que 4 réellement appréciables : pic d'éthanol énorme, en comparaison de ceux de méthane, acétone, éthanol .

Les n°3 et 4 proviennent respectivement de 500 grammes de prunes violettes Allo et d'abricots de Roussillon, avant maturité ; le pic de l'éthanol est le plus important .

Le n°5 provient de 200 grammes de feuilles de vigne placées dans le vide et éclairées par une lampe électrique pendant 24 heures ; on a pu recueillir dans le tube à vide n°3 une grosse goutte de liquide condensé, dont 1 microlitre a été injecté directement dans l'appareil . Le chromatogramme obtenu montre un très grand pic d'éthanol et un pic important de méthanol ; par contre, mise à part une présence nette d'acétone et d'éthanal, il y a très peu de produits volatils .

Le n°6 a été obtenu à partir de 300 grammes de feuilles de lilas éclairées durant 24 heures . On remarque un pic très important d'éthanol; deux autres appréciables méthanol et éthanal ; les autres sont très faibles .

Le n°7 provient de la condensation dans le vide des gaz exhalés par 1000 grammes de clémentines bien mûres : il y a un énorme pic d'éthanol, une esquisse du pic du méthanol et un petit pic d'éthanal .

Le n°8 correspond aux gaz émanés de 1 kg d'oranges Navel mûres . Il nous montre deux pics très importants éthanol et acétate d'éthyle, 3 autres assez nets, méthanol, acétone, éthanal .

Nous allons maintenant exposer ce que l'on obtient à partir de plantes in situ recouvertes du dispositif n°5 (planche Ap) : les gaz sont aspirés et refoulés dans le tube n°2 (Ap) plongeant dans la glace carbonique ;l'opération dure 24 heures . Puis on laisse réchauffer le tube à la température ambiante : on obtient plusieurs millilitres de liquide provenant de la condensation, que l' on

distille dans l'appareil décrit dans le chapitre matériel et on recueille 0, 5 ml.

Dans ce domaine, les premiers travaux ont été présentés par MASQUELIER et VITTE (2) . Nous avons continué et confirmé entièrement leur conclusion.

Quelques explications sur les chromatogrammes obtenus avec les gaz exhalés par diverses plantes ne nous semblent pas inutiles .

Tout d'abord, nous allons constater que la ligne de base n'est presque jamais horizontale; cette dérive est due au fait que l'appareil a travaillé au maximum de sensibilité .

Les chromatogrammes 9, 10 11 ont été obtenus avec les condensations provenant d'un même lot de dahlias . Chacune des trois expériences a été faite à un jour d'intervalle .

On distingue très nettement 7 pics, le plus important étant celui du méthanol pour les n° 9 et 10 et celui de l'éthanol pour le n° 11 .

Les pics du butanol, acétate d'éthyle, acétone, éther sont encore très nets ; on remarque l'importance du pic de l'éther dans le n° 10 .

Le n° 12 a été obtenu à partir de gaz dégagés par un carré d'herbe de talus, sur une surface d'environ 0, 50 mètre carré . On distingue les mêmes pics, les plus importants étant ceux de l'éthanol et acétone .

Les n° 13, 14, 15 proviennent des gaz émis par des plants de salades scaroles d'une surface égale à environ 0, 50 mètre carré .

L'échantillon n° 14 a été prélevé 4 jours après le n° 13 et le n° 15, 7 jours après le n° 13 . Nous sommes d'abord frappée par l'importance du pic de l'éthanol dans le n° 13 et la faible quantité des autres composés volatils, à l'exception de l'éthanal : dans les n° 14 et le n° 15, on retrouve la présence nette d'éthanol, méthanol, butanone, acétate d'éthyle, acétone, éthanal, éther .

Les n°16, 17, 18 ont été obtenus à partir des gaz exhalés par un lot de 3 choux-fleurs coiffés par le dispositif de la figure 5 (Ap) .

Là encore,on retrouve les mêmes composés que que dans la salade et en quantité variable les uns par rapport aux autres . Ainsi, le n°16 a beaucoup d'éthanol, peu de méthanol; les n° 17 et 18 ont des quantités voisines de ces deux alcools ; les n°16 et 18 ont peu d'acétone ; le n° 19 en a beaucoup plus . Signalons que les chromatogrammes 17 et 18 ont été obtenus sans intervalle de temps .

Les n°19 et 20 sont des reproductions des courbes présentes dans la publication mentionnée plus haut . On y retrouve les mêmes pics .

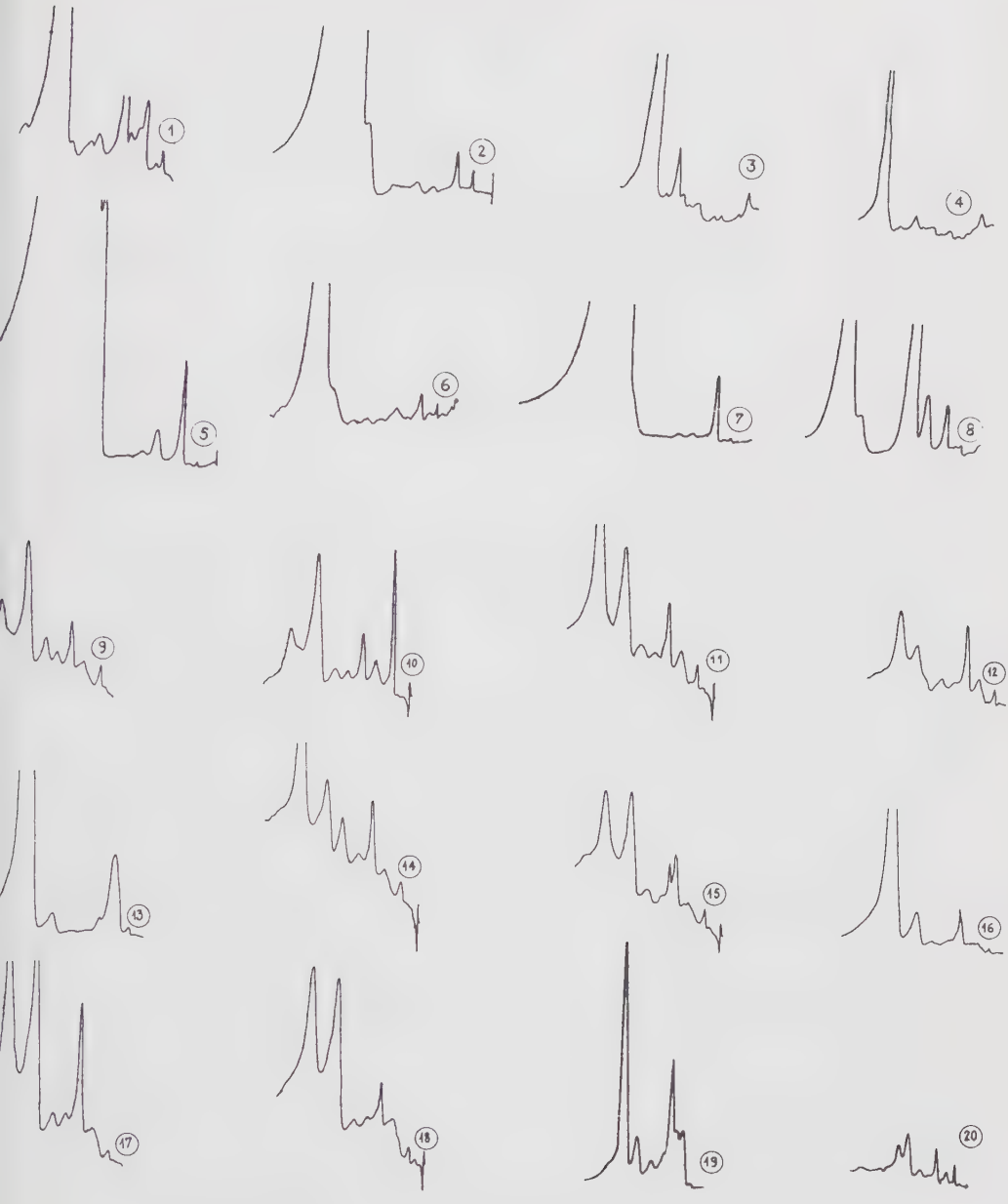
En considérant les tracés obtenus avec les gaz dégagés par les fruits, on constate dans tous les cas, une présence importante d'éthanol par rapport au méthanol, une faible quantité des autres composés, sauf dans la figure 8 où l'acétone est fortement présente . On peut également se rendre compte que l'on retrouve en général tous les composés oxygénés volatils déjà mis en évidence .

En observant les chromatogrammes obtenus par les plantes in situ, nous pensons qu'il est important de souligner les variations constatées à partir d'une même espèce, traitées dans les mêmes conditions, mais à des jours différents .

Aussi bien dans le cas des dahlias, de l'herbe, des salades, des choux-fleurs, on constate de très nettes variations dans les quantités d'éthanol relativement aux autres corps .

Nous pensons qu'il serait intéressant de refaire un travail identique en fonction des conditions atmosphériques, température, insolation et de l'état de développement des plantes .

Mais on se trouve alors en présence de réelles difficultés techniques .



VG

CHAPITRE X

IMPORTANCE DU METHANOL DANS LES PLANTES

Nous avons vu au chapitre I que le méthanol existait à l'état libre aussi bien chez les animaux que chez les végétaux ; il ne semble pas que les auteurs aient recherché systématiquement cet alcool directement dans les plantes .

Il a cependant été signalé dans les huiles essentielles de tabac par ISAA ONISHE (33), de roses par PANOYOTOV (17), dans les feuilles de thé après fermentation par LAMB (34), dans les feuilles de houblon par HAROLD (35) .

Par contre, il a été trouvé dans l'arôme et les essences de nombreux fruits (ananas, cacao, framboise, orange, pommes, raisins, tomates) .

Il a été signalé dans les racines seulement pour l'oignon par SPARR (36), la pomme de terre par SCHORNMULLER (6) .

Nous allons donner des exemples choisis parmi nos résultats .

Les nombreux chromatogrammes obtenus directement à partir de feuilles, fleurs, fruits, racines, de gaz exhalés par les organes végétaux, ou les plantes entières in situ (plus de sept cents) nous montrent l'importance du méthanol . On peut dire qu'il y a une présence constante de méthanol à côté d'éthanol, les quantités respectives de ces deux composés étant variables .

La planche A va nous montrer les résultats obtenus avec les fleurs ou parties de fleurs ; dans chacune des figures numérotées de 1 à 20, le pic du méthanol est le deuxième à partir de la gauche, le premier étant celui de l'éthanol .

D'emblée, on peut voir de très grandes différences dans cette teneur . Ainsi (fig. 1), il y a plus de méthanol que d'éthanol . Au contraire (fig. 15) il y a très peu de méthanol par rapport à l'éthanol , l'importance de l'éthanol et du méthanol sont à peu près égales (fig. 11).

Si nous entrons dans le détail , nous trouverons que les fleurs entières de prunier Golden (fig. 1) , de lilas mauve (fig. 4) contiennent plus de méthanol que d'éthanol ; que les fleurs de cerisiers (fig. 2), de pommiers (fig. 3), de robinia (fig. 16), contiennent des quantités à peu près égales de ces deux alcools .

Nous avons ensuite divisé certaines fleurs en trois parties . Un ensemble d'une variété de fleurs pourra fournir les pétales seuls (fig. 9 et 13) ; les organes floraux sans pétales et sans pédoncules (fig. 10 et 14) ; les pédoncules seuls (fig. 11 et 15) .

Sur les figures 9, 10 , 11 obtenues avec des fleurs de cerisier, 13, 14, 15 avec des fleurs de fraisier, on voit que, sauf dans le pédoncule, l'éthanol est en quantité supérieure au méthanol, alors que les quantités sont à peu près égales pour les pédoncules (fig. 11 et 15) .

Enfin, si nous considérons les figures obtenues à partir des pétales (fig. 5 pêcher, 7 pommier, 8 rosier, 9 cerisier, 13 fraisier, 17 poirier), on constate qu'il y a dans toutes plus d'éthanol que de méthanol .

Considérons maintenant la planche MT .

Les figures 1 et 2 proviennent respectivement de 5 g de racines et de 5 g de fleurs du même pied de tabac ornemental ; dans la racine, il y a un peu plus de méthanol que d'éthanol ; dans la fleur, les deux alcools sont en quantité sensiblement égale .

La figure 3 a été obtenue à partir de jus de poivrons traités moins d'une demi-heure après la cueillette .

La figure 4 provient de jus de poivrons achetés au marché ; il y a une nette différence ; dans le produit fraîchement cueilli au moment de l'expérience il y a beaucoup plus de méthanol que d'éthanol ; dans le produit commercial dont il est impossible de connaître l'origine et la date de ramassage, on constate que pour une même sensibilité de l'appareil, il y a beaucoup moins de ces deux alcools qui sont en quantités égales .

Figure 5, on constate que dans les racines du même poivron, il y a très peu de méthanol et beaucoup d'éthanol, tandis que la figure 6 représentant les feuilles de ce poivron montre à l'inverse beaucoup de méthanol et peu d'éthanol .

Les figures 7 à 12 incluses concernent les jus obtenus avec les tubercules de pomme de terre .

La figure 7 obtenue à partir de pomme de terre Bintje montre un très grand pic de méthanol et des traces d'éthanol .

La figure 8 obtenue à partir d'un mélange de un volume de distillat correspondant au chromatogramme n°7 et un volume d'une solution d'éthanol à un pour mille, nous montre un grand pic d'éthanol , un pic de méthanol plus petit que celui obtenu dans le n°7 : ceci est la conséquence de la dilution .

On peut donc affirmer que dans le jus de pomme de terre il y a bien des traces d'éthanol et présence nette de méthanol .

Les figures 9, 10, 11, 12 proviennent de jus de pommes de terre respectivement de Bintje récoltées dans le Nord de la France, Early, D. B. A., Stella . Elles montrent la même particularité pour les alcools que la figure 7 .

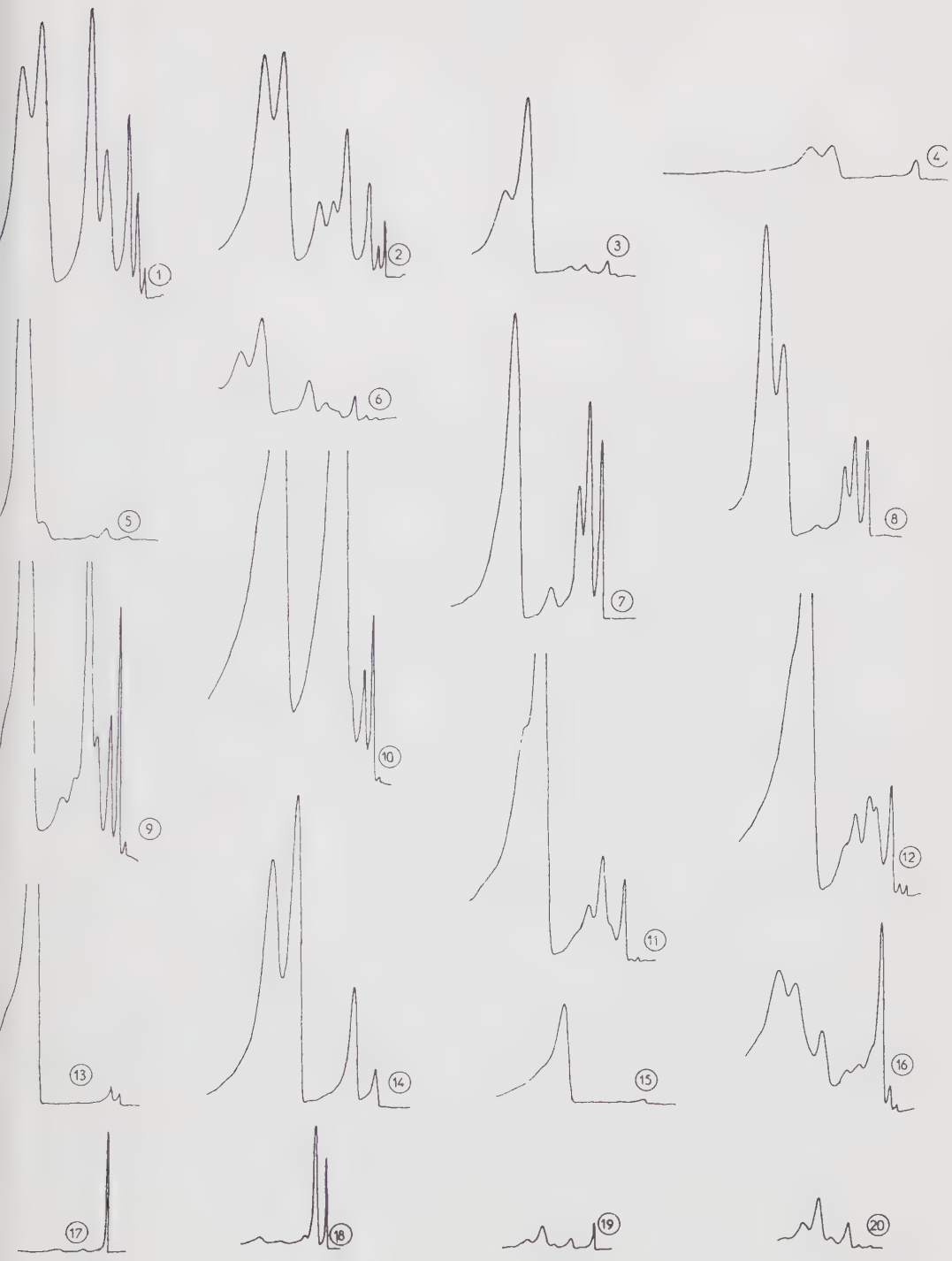
Les figures 13 et 14 proviennent respectivement de feuilles et fleurs d'une même branche d'olivier: dans la feuille, il y a très peu d'éthanol par rapport au

méthanol ; dans la fleur on ne constate qu'une petite différence quantitative en faveur du méthanol .

La figure 15 provient de feuilles de Phillerea angustifolia, mais le chromatogramme a été obtenu avec une très grande atténuation ; le seul pic important est celui du méthanol .

Sur la figure 10 obtenue à partir de feuilles de frène : on constate une légère prédominance de l'éthanol sur le méthanol .

Les recherches effectuées sur plusieurs oléacés sembleraient indiquer l'importance du méthanol dans cette famille ; à ce sujet, d'autres recherches sont en cours .



MT

CONCLUSIONS

Nous espérons que ce travail sera apprécié par le lecteur car il apporte une contribution réelle à la connaissance des composés oxygénés volatils des plantes. Il a réalisé tout d'abord la mise au point de techniques nouvelles, tant en ce qui concerne les plantes entières que les organes végétaux car ce sujet n'avait pas encore été pratiquement abordé . De l'ensemble des nombreux chromatogrammes reproduits dans cette thèse, on peut déduire que l'on retrouve toujours mais en proportion variable des composés oxygénés à faible condensation en carbone dans les plantes ou les organes végétaux ; des alcools : méthanol, éthanol; des aldéhydes : éthanal ; propanal; des cétones : acétone, butanone; des éthers oxydes, éthyle oxyde éthyle et presque sûrement méthyle oxyde éthyle , un ester : l'acétate d'éthyle .

La présence d'éthanol dans les fruits mûrs était connue mais dans les fruits verts, dans les diverses parties de plantes, la mise en évidence n'avait pas été faite .

L'existence de méthanol ne semble pas avoir été signalée et ce travail montre son importance dans le règne végétal puisque dans certaines plantes il existe en plus grande quantité que l'éthanol .

L'éthanal est pratiquement mis en évidence de façon constante et parfois en quantité importante . Il en est de même de l'acétone .

La présence d'éthers oxydes se retrouve dans presque tous les chromatogrammes ; l'éther ordinaire identifié mis en évidence par LAUBIE et VITTE et aussi le méthyle oxyde éthyle dont l'existence est à peu près certaine .

Ce travail a confirmé la communication de MASQUELIER et VITTE à l'Académie des Sciences concernant la présence dans les gaz exhalés par les plantes in vitro et in vivo : d'alcools, d'aldéhydes, de cétones d'éthers à faible poids moléculaire .

Enfin des recherches systématiques sur le taux d'éthanol dans les fruits du commerce ont montré la présence constante de ce composé à des taux non négligeables . Cependant la quantité trouvée montre que l'absorption de jus de fruits frais ne peut avoir aucune influence sur l'alcoolémie .

BIBLIOGRAPHIE

1- JAULMES P., BRUN S.- La présence d'alcools dans divers végétaux et produits végétaux .
Trav. Soc. Pharm. Montpellier (1967), 27 , 117-25 .

2- MASQUELIER J., VITTE G. - Sur la production aérobie d'alcool et de divers corps volatils par les végétaux .
C. R. Acad. Sciences (1967), 265 - 1924-28

3- THOMAS M. - The controlling influence of carbon dioxide.
Biochem. J. (1925), 19-927 .

4- WEBB A. D., KIPNER R. C. - Some volatile aroma constituents of vitis vinifera variety muscat Food research (1957,, 22-326 .

5- WHITE J. V. - Composition of apples volatiles
Food research (1950) 15-68 .

6- SCHORNMULLER J., GROSCH W. - Aromatics in food. Analysis of the volatile alcohols occuring in tomatoes .
Z. Lebens. Untersuch. Forsch (1965) 126 - 188-93 .

7- CONNELL D. W. - Volatile constituents of pineapple
Austral. J. Chem. (1964) 17 -130-140 .

8- THOMAS M., FIDLER J. C. - Studies in zymasis
Biochem. J. (1933), 27 . 1629-32 .

9- HOLLEY R. W. - Identification of some volatile constituents of concorde grape Food research (1955) 20, 326-31 .

10- WEBB A.D.-Composition of typical grape brandy fusel oil .
Anal. Chem. (1952) 24, 1944-47 .

11- PYNE A. W., WICK E. - Volatile components of tomato J. Food. Science (1965) 30 (2) 192 .

12- SWAIN A., SELF R. - Studies on potatoes flavour .
European potato J. (1964), 7 , 197 .

13- GAWLER J. H. - Identified pineapple flavouring constituents .
J. Sc. Food Agr. (1962) 13 , 57.

14- RALLS J. W., Mac FADDEN W. - Volatile from a commercial pea Blancher .
J. Food Science (1965) 30 (2) 228 .

15- WINTER M., WHILHALM R. - Chromatography on column and paper in the study of volatile fruit flavor .
Helv. Chim. Acta (1964), 47 2195 .

16- HEINZ D. E., JENNING W. C. - Volatile components of Barlett pear .
J. Food , Science (1966) 31 (1) 69-80 .

17- PANOYOTOV A. - On alcool in roses oil .
Perfumery essent. oil. record (1961) 50 -676.

18- STERN D. J., LEC A. - Volatile from grapes identification of volatile from concord essence .
J. Agric. Food Chem. (1967) 15 - 1100-04 .

19- STEVENS K. L. - BOMBEN J. - Volatile from grapes muscat of Alexandria .
J. Agric. Food Chem. (1966) 14 - 249-52 .

20- PRINGSHEIM B. - Bioch. Z. 12, 143 .

21- GODEAU A. - Sur le diagnostic biochimique de l'alcoolisme aigu .
Thèse de Médecine Bordeaux 1933 .

22- GURFINKEL - C.R. Soc. Biologie 115, 1051 .

23- CHAPHEAU - Recherches expérimentales sur la combustion de l'éthanol .
Thèse de Pharmacie Bordeaux 1934 .

24- LESTER D. - Quaterly .
J. Stud. Alc. (1965), 23 , 17 .

25- LECOCQ R. - Manuel d'analyses médicales .
Masson ed. 1962 .

26- ERIKSEN St.- Méthanol in human breath .
Science N. Y. (1963) 141 , 639 .

27- ANDERSON J., Von SYDOW E. - Aroma of black currants .
Acta Chem. Scand. (1966) , 20 , 522-8 .

28- LAUBIE H., VITTE G. - Sur la présence d 'éther dans les plantes .
Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux (1968) 108, 145 .

29- PRESTON - Gaz. Chromat. retention data .
Preston Cy. Ed. (1966) .

30- LAUBIE H. - Identification et dosage d'un fongicide : le chlorure de méthoxyéthylmercure .
Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux (1957) 96, 65-6 .

31- MASQUELIER J., VITTE G. - Sur la présence d'éthanol dans les jus de fruits .
Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux (1967) , 106, 35-6 .

32- MASQUELIER J.,QUEYLOUIS A.M., VITTE G. - Sur l'importance du taux d'éthanol dans les fruits frais comestibles . Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux (1969) 108 , 49-51 .

33- ISAA-ONICHI - Bull. Agr. Chem. Soc. Japan (1966) , 21 .

34- LAMB A. - Volatile constituents of tea leaf . J. Sciences Food Agr. (1958) , 2 , 43-6 .

35- HAROLD F. - Influence of hopeoil on the flavour and aroma of beer . J. Inst. Brewing (1960) 66 395-98 .

36- SPARE C., VIRTAN A. - The volatile carbonyls and alcohols in the flavour substance of onion Acta Chem. Scand. (1961) 15 , 1280-4 .

37- BERARD E. - Sur la maturation des fruits . Ann. Chim. Phys. (1821) , 16-152 .

38- CORDEBARD H. - Dosage de l'alcool dans le sang par oxydation nitro chromique . Bull. Trav. Soc. Pharm. Nancy (1957) 33 14-17 .

39- LOISELEUR - Techniques de laboratoire . Masson éd. t . T. p. 655 .

40- PATTISON - A programmed introduction to gas liquid chromatography published by . Heydens and son ltd 1969 .

41- TRANCHANT J. - Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse . 2e Edit. Masson ed. Paris 1968 .

42- TSWETT M. - Trav. Soc. Nat. Varsovie (1903)14-20

43- TSWETT M. - Ber. Dent. Botan. Ges. (1906) 24 316-384.

EDITIONS BERGERET - 2,rue Bergeret - BORDEAUX. Tél. 91.12.59

TABLE DES MATIERES

	Pages
AVANT-PROPOS	1
INTRODUCTION	2
CHAPITRE I - Principaux travaux publiés sur quelques composés volatils chez les être vivants	5
CHAPITRE II - Matériel et Techniques	9
CHAPITRE III- Etude sur les bourgeons	24
CHAPITRE IV- Etude sur les fleurs	28
CHAPITRE V - Etude sur les feuilles	31
CHAPITRE VI - Etude spéciale de l'éthanol dans les fruits	34
CHAPITRE VII- Sur la présence d'éthers dans les plantes	38
CHAPITRE VIII-Evolution des composés oxygénés volatils dans la vigne	43
CHAPITRE IX - Recherches sur les gaz exhalés par les plantes	47
CHAPITRE X - Importance du méthanol dans les plantes	52
CONCLUSIONS	57
BIBLIOGRAPHIE	59